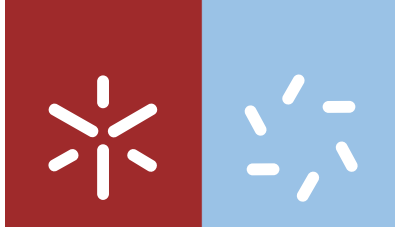


Universidade do Minho
Escola de Ciências

Sofia Maria da Costa Pereira

**Síntese de Péptidos Contendo Resíduos
de Aminoácidos Não-Proteinogénicos
N-Alquilados**



Universidade do Minho

Escola de Ciências

Sofia Maria da Costa Pereira

**Síntese de Péptidos Contendo Resíduos
de Aminoácidos Não-Proteinogénicos
N-Alquilados**

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Química Medicinal

Trabalho realizado sob a orientação do
**Professor Doutor Luís Miguel Oliveira Sieuve
Monteiro**
e da
**Professora Doutora Sílvia Manuela Monteiro
Alves Pereira-Lima**

outubro de 2013

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE;

Universidade do Minho, ____/____/____

Assinatura: _____

Agradecimentos

Projeto define-se como um esforço temporário empreendido com o intuito de criar um produto, serviço ou resultado exclusivo.

O projeto que desenvolvi ao longo do segundo ano de mestrado não só me envolveu a mim como a outras pessoas às quais aproveito desde já para agradecer.

O meu mais sincero agradecimento ao Doutor Luís Monteiro e à Doutora Sílvia Pereira-Lima pela oportunidade em realizar este trabalho, pela sua orientação, ensinamento, disponibilidade e imenso apoio. Muito obrigada professores!

Agradeço aos colegas do Laboratório Helena, Carla e Nuno, pela ajuda, simpatia, amizade e momentos muito agradáveis no laboratório e em especial às minhas amigas Cláudia, Sílvia e Madalena pelo companheirismo e apoio.

Impossível de esquecer, tenho que agradecer à minha família sempre presente, pelo apoio, compreensão e incentivo ao longo destes dois anos de Mestrado, principalmente estes últimos meses de escrita; é sem dúvida aos meus pais a quem devo aquilo que sou hoje.

Agradeço também ao meu namorado e todos os meus amigos que por acreditarem em mim sempre me apoiaram, pelo carinho, amizade e momentos de distração.

À Dra. Elisa e Dra. Vânia pela disponibilidade e profissionalismo na realização dos espectros de RMN e análise elementar.

À Universidade do Minho, em especial ao Departamento de Química, pelas condições de acolhimento proporcionadas para a realização deste trabalho.

Resumo

Neste trabalho pretendeu-se estudar a possibilidade de obter novos aminoácidos não naturais, por *N*-alquilação de derivados da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina. Posteriormente aplicou-se a metodologia desenvolvida para a *N*-alquilação de dipéptidos contendo resíduos de $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina e diversos α,β -desidroaminoácidos. De modo a obter $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas *N*-alquiladas, o éster metílico do aminoácido não-natural dimetilglicina (Aib) foi protegido com diferentes grupos nomeadamente, o grupo *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), o grupo benziloxicarbonilo (Z), o grupo 4-nitrobenzenesulfonilo (Nosilo), o grupo 4-toluenesulfonilo (Tos) e o grupo benzoílo (Bz). De seguida, procedeu-se à *N*-metilação e *N*-etilação dos mesmos por reação com tetrafluoroborato de trimetiloxónio e tetrafluoroborato de trietiloxónio, respetivamente, na presença de *tert*-butóxido de potássio como base auxiliar. Em seguida foram preparados esteres metílicos de dipéptidos contendo um resíduo de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicina protegido com o grupo *N*-benziloxicarbonilo e um β -hidroxiaminoácido (serina, treonina e β -hidroxifenilalanina). Testou-se a possibilidade de obter *N*-etil-desidro-dipéptidos, a partir destes dipéptidos usando duas vias sintéticas alternativas: desidratação (*tert*-butilpirocarbonato e *N,N*-dimetilaminopiridina) seguida de *N*-etilação ou em alternativa, *N*-alquilação seguida de desidratação. No entanto, a tentativa de obtenção de *N*-benziloxicarbonilo-*N*-etil-desidroaminoácidos por ambas as vias sintéticas resultou na formação de uma mistura complexa a qual se pensa resultar de misturas de dipéptidos mono e di-etilados. Assim, decidiu-se substituir o grupo protetor benziloxicarbonilo por 4-nitrobenzenosulfonilo permitindo assim, o uso de uma base mais fraca *N,N*-diisopropiletilamina. Foram preparados esteres metílicos de dipéptidos contendo um resíduo de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicina protegido com o grupo 4-nitrobenzenosulfonilo e um β -hidroxiaminoácido (serina, treonina e β -hidroxifenilalanina). Em seguida foram usadas com sucesso as mesmas vias sintéticas indicadas anteriormente, permitindo obter dipéptidos contendo aminoácidos não-naturais com as características de *N*-alquilaminoácidos, de desidroaminoácidos e de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas. Estes poderão ter eventual aplicação na síntese de péptidos com potencial ação farmacológica.

Abstract

In this work, we intended to study the possibility of obtaining new non-natural amino acids by *N*-alkylation of derivatives of $C^{\alpha,\alpha}$ -dimethylglycine. Subsequently we tried to apply the methodology developed to the *N*-alkylation of dipeptides containing $C^{\alpha,\alpha}$ -dimethylglycine and diverse dehydroamino acids. In order to obtain *N*-alkylated $C^{\alpha,\alpha}$ -dimethylglycines, the methyl ester of the non-natural amino acid, Aib, was protected with such groups as, the group *tert*-butyloxycarbonyl (Boc), benzyloxycarbonyl group (Z), 4 – nitrobenzenesulfonyl group (Nosyl), 4- toluenesulfonyl group (Tos) and benzoyl (Bz). Then we proceeded to *N*-methylation and *N*-ethylation by the reaction of these amino acid derivatives with trimethyloxonium tetrafluoroborate and triethyloxonium tetrafluoroborate, respectively, in the presence of potassium *tert*-butoxide as the auxiliary base. Subsequently, methyl esters of dipeptides containing a $C^{\alpha,\alpha}$ -dialkylglycine and β -hydroxyamino acid (serine, threonine and β -hydroxyphenylalanine) protected with the benzyloxycarbonyl group were prepared. Then, we tested the possibility of obtaining *N*-ethyldehydrodipeptides from these dipeptides using two alternative synthetic routes: dehydration (*tert*-butylpyrocarbonate and *N,N*-dimethylaminopyridine) followed by *N*-ethylation; or *N*-alkylation followed by dehydration. However, both synthetic routes led to the formation of a complex mixture that is thought to result from mono and diethylation.

Thus, it was decided to replace the benzyloxycarbonyl protecting group by the 4-nitrobenzenesulfonyl group, thus allowing the use of a weaker base *N,N*-diisopropylethylamine and ensuring alkylation of the amino group only in the first residue. Thus, methyl esters of dipeptides containing a $C^{\alpha,\alpha}$ -dialkylglycine and β -hydroxyamino acid (serine, threonine and β -hydroxyphenylalanine) protected with the 4-nitrobenzenesulfonyl group were prepared. Hydration and *N*-alkylation following the same synthetic routes indicated above was carried out with success, giving dipeptides containing non-natural amino acids with the characteristics of *N*-alkylamino acids, dehydroamino acids and $C^{\alpha,\alpha}$ -dialkylglycines. These may have potential application in the synthesis of peptides with pharmacological action.

Índice

Capítulo 1 Introdução.....	1
1.1 Péptidos	2
1.2 Proteínas	2
1.3 Aminoácidos	3
1.4 Aminoácidos não proteinogénicos	4
1.4.1 D-Aminoácidos	4
1.4.2 β -Aminoácidos	5
1.4.4 $C^{\alpha,\alpha}$ -Dialquilglicinas	6
1.4.5 Desidroaminoácidos	8
1.4.6 <i>N</i> -alquilaminoácidos	12
Capítulo 2 Resultados e Discussão	21
2.1 Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -alquil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas.....	26
2.1.1 Síntese do éster metílico da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina	26
2.1.2 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -acil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas	27
2.1.3 Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -alquil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas	29
2.2 Síntese de dipéptidos, desidrodipéptidos e dipéptido/desidrodipéptidos <i>N</i> -etilados.....	33
2.2.1 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -benziloxycarbonildipéptidos	33
2.2.2 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -benziloxycarbonildesidrodipéptidos	37
2.2.3 Tentativa de síntese de esteres metílicos de	38
<i>N</i> -etil- <i>N</i> -benziloxycarbonildesidrodipéptidos	38
2.2.4 Tentativa de síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -etil- <i>N</i> -benziloxycarbonildipéptidos e de <i>N</i> -etil- <i>N</i> -benziloxycarbonildesidrodipéptidos	39
2.2.5 Desproteção do éster metílico de <i>N</i> -(4-nitrobenzenesulfonil)- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina	41
2.2.6 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -(4-nitrobenzenesulfonil)dipéptidos	42
2.2.7 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -(4-nitrobenzenesulfonil)desidrodipéptidos	44
2.2.8 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -etil, <i>N</i> -(4-nitrobenzenesulfonil)desidrodipéptidos	46
2.2.9 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -etil- <i>N</i> -(4-nitrobenzenesulfonil)dipéptidos	48
7	49
2.2.10 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -etil- <i>N</i> -(4-nitrobenzenesulfonil)desidrodipéptidos	49
Capítulo 3 Conclusões	52
Capítulo 4 Parte Experimental	55
4.1 Técnicas Gerais	56
4.2. Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -alquil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina	57

4.2.1 Síntese do éster metílico da C^{α,α}-dimetilglicina 1	57
4.2.2 Síntese do éster metílico da serina	58
4.2.3 Síntese de esteres metílicos de N-acil-C^{α,α}-dimetilglicina	58
• Síntese de Boc-Aib-OMe 2a	58
• Síntese de Nosyl-Aib-OMe 2b	59
• Síntese de Tos-Aib-OMe 2c	60
• Síntese de Z-Aib-OMe 2d	61
• Síntese de Bz-Aib-OMe 2e	61
4.2.4 Síntese de ésteres metílicos de N-acil, N-alkil-C^{α,α}-dimetilglicina	62
• Síntese de Boc-N(Me)-Aib-OMe 3a	62
• Síntese de Nosyl-N(Me)-Aib-OMe 3b	63
• Síntese de Tos-N(Me)-Aib-OMe 3c	64
• Síntese de Z-N(Me)-Aib-OMe 3d	64
• Síntese de Bz-N(Me)-Aib-OMe 3e	65
• Síntese de Boc-N(Et)-Aib-OMe 4a	66
• Síntese de Nosyl-N(Et)-Aib-OMe 4b	67
• Síntese de Tos-N(Et)-Aib-OMe 4c	68
• Síntese de Z-N(Et)-Aib-OMe 4d	69
• Síntese de Bz-N(Et)-Aib-OMe 4e	69
4.3 Síntese de dipéptidos, desidrodipéptidos e dipéptido/desidrodipéptidos N-etilados	70
4.3.1 Síntese de esteres metílicos de N-benziloxycarbonildipéptidos	70
• Síntese de Z-Aib-Ser-OMe 5a	70
• Síntese de Z-Aib-Thr-OMe 5b	71
• Síntese de Z-Aib-Phe(βOH)-OMe 5c	72
4.3.2 Síntese de esteres metílicos de N-benziloxycarbonildesidrodipéptidos	73
• Síntese de Z-Aib-ΔAla-OMe 6a	73
• Síntese de Z-Aib-ΔAbu-OMe 6b	74
• Síntese de Z-Aib-ΔPhe-OMe 6c	75
4.3.3 Tentativa de síntese de esteres metílicos de N-etil, N-benziloxycarbonildesidrodipéptidos	76
• Tentativa de síntese de Z-N(Et)-Aib-N(Et)-ΔAla-OMe 8a	76
• Tentativa de síntese de Z-N(Et)-Aib-N(Et)-ΔAbu-OMe 8b	76
• Tentativa de síntese de Z-N(Et)-Aib-N(Et)-ΔPhe-OMe 8c	77
4.3.4 Tentativa de síntese de esteres metílicos de N-etil, N-benziloxycarbonildipéptidos	78

• Tentativa de síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Aib- <i>N</i> (Et)-Ser-OMe 7a	78
• Tentativa de síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Aib- <i>N</i> (Et)-Thr-OMe 7b	78
• Tentativa de síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Aib- <i>N</i> (Et)-Phe(β OH)-OMe 7c	79
4.3.5 Desproteção do éster metílico de de <i>N</i>-(4-nitrobenzenesulfonyl)-<i>C</i>^{α}-dimetilglicina.	79
4.3.6 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i>-(4-nitrobenzenesulfonyl)dipéptidos	80
• Síntese de Nosil-Aib-Ser-OMe 9a	80
• Síntese de Nosil-Aib-Thr-OMe 9b	81
• Síntese de Nosil-Aib-Phe(β OH)-OMe 9c	82
4.3.7 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i>-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos	83
• Síntese de Nosil-Aib- Δ Ala-OMe 10a	83
• Síntese de Nosil-Aib- Δ Abu-OMe 10b	84
• Síntese de Nosil-Aib- Δ Phe-OMe 10c	85
4.3.8 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i>-etil, <i>N</i>-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos	86
• Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)-Aib- Δ Ala-OMe 12a	86
• Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)-Aib- Δ Abu-OMe 12b	87
• Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)-Aib- Δ Phe-OMe 12c	88
4.3.9 Síntese de esteres metílicos de <i>N</i>-etil, <i>N</i>-(4-nitrobenzenesulfonyl)dipéptidos	89
• Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)-Aib-Ser-OMe 11a	89
• Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)-Aib-Thr-OMe 11b	89
• Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)-Aib-Phe(β OH)-OMe 11c	90
Bibliografia	91

Lista de abreviaturas e símbolos

Ac	Acetilo
ACN	Acetonitrilo
AcOEt	Acetato de etilo
Aib	C ^{α,α} -dimetilglicina
ap	Aparente
Bn	Benzilo
Boc	Grupo <i>terc</i> -butiloxicarbonilo
Boc ₂ O	Pirocarbonato de <i>terc</i> -butilo
Bz	Grupo benzoílo
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
(CH ₃) ₃ COK	<i>terc</i> -Butóxido de potássio
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DCCI	Diciclo-hexilcarbodiimida
DEPT	Intensificação da distorção por transferência de polarização “ <i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer</i> ”
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EI	Impacto electrónico
eq.	Equivalente
ESI	Ionização electrospray, “Electron spray ionization”

Exp.	Experiência
Fig.	Figura
HMBC	Correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional a longa distância (<i>"<u>H</u>eteronuclear <u>M</u>ultiple <u>B</u>ond <u>C</u>orrelation"</i>)
HMQC	Correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional (<i>"<u>H</u>eteronuclear <u>M</u>ultiple <u>Q</u>uantum <u>C</u>orrelation"</i>)
HOBt	1-hidroxibenzotriazole
HRMS	Espectroscopia de massa de alta resolução <i>"High Resolution Mass Spectrometry"</i>
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento (expressa em Hz)
m	Multipleto
m/z	Razão massa/carga
Nosilo	Grupo 4-nitrobenzenesulfonilo
p.a.	Pro análise
p.f.	Ponto de fusão (°C)
Ph	Fenilo
Phe(βOH)	Fenilserina
ppm	Partes por milhão
Pro	Prolina
QSAR	Relação quantitativa estrutura-atividade
¹ H-RMN	Ressonância magnética nuclear de próton
¹³ C-RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
SAR	Relação estrutura-atividade
s	Singuleto

sol. aq.	Solução aquosa
t	Tripleto
T.A.	Temperatura ambiente
TMG	<i>N,N,N',N'</i> -Tetrametilguanidina
Tos	Grupo 4-toluenesulfonilo
Tre	Treonina
UV	Ultra violeta
Z	Grupo benziloxycarbonilo
α -ABG	α -acetobromoglucose
Δ Abu	Ácido desidroaminobutírico
Δ Ala	Desidroalanina
Δ Phe	Desidrofenilalanina
δ	Desvio químico (ppm)
η	Rendimento (%)

Capítulo 1

Introdução

1.1 Péptidos

Os péptidos são cadeias curtas de monómeros de aminoácidos ligados entre si por ligações amida (Figura 1). Os péptidos classificam-se de acordo com o número de aminoácidos que os constituem podendo classificar-se em dipéptidos (dois aminoácidos), tripéptidos (três aminoácidos), tetrapéptidos (quatro aminoácidos) e polipéptidos (cinco ou mais aminoácidos).¹

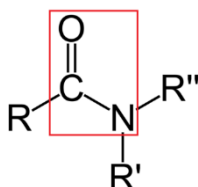


Figura 1: Ligação amida

1.2 Proteínas

As proteínas (Figura 2) são constituintes essenciais de todos os organismos vivos estando envolvidas numa grande diversidade de funções tais como regulação do metabolismo, transporte, defesa e catálise.²

A diversidade funcional exibida por esta classe de biomoléculas está relacionada com as possibilidades de combinação das unidades monoméricas que as constituem, os aminoácidos.¹ Efetivamente, as proteínas são compostos de massa molecular elevada sintetizadas pelos organismos vivos através da condensação de um elevado número de α -aminoácidos. Têm como característica principal possuírem uma estrutura tridimensional bem definida.³

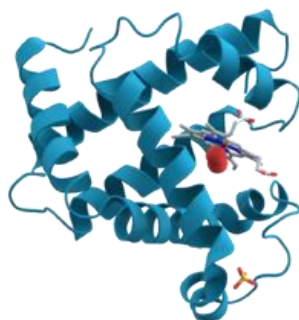
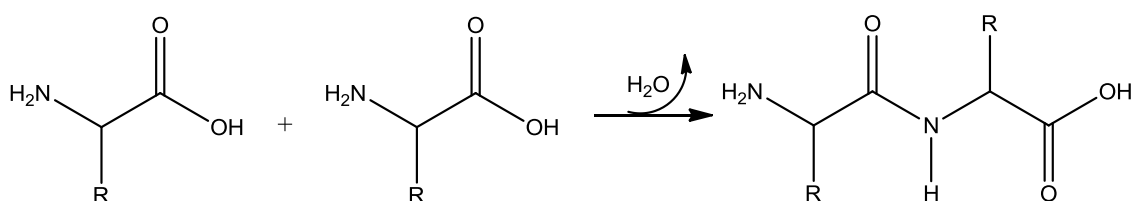


Figura 2: Estrutura α -hélice de uma proteína

1.3 Aminoácidos

Aminoácido é um composto que apresenta na sua estrutura um grupo ácido carboxílico (-COOH) e um grupo amina (-NH₂) ligados a um átomo de carbono, possuindo ainda um átomo de hidrogénio e um grupo que se designa por cadeia lateral. As diferentes sequências de cadeias laterais permitem obter péptidos e proteínas com estruturas e propriedades distintas. Existe uma diversidade de aminoácidos, sendo os mais importantes no mundo biológico os α -aminoácidos uma vez que constituem a estrutura base das proteínas.

A formação das cadeias polipeptídicas exige a formação de uma ligação covalente entre as moléculas de aminoácidos formando uma ligação amida entre o grupo carboxílico de um aminoácido e grupo amina do outro, com a eliminação de uma molécula de água. Este processo denomina-se reação de condensação (esquema 1). Este tipo de reações pode originar cadeias polipeptídicas curtas – péptidos, ou ainda originar cadeias polipeptídicas longas – proteínas.⁴



Esquema 1

A elevada especificidade e baixa toxicidade, entre outras, são as grandes vantagens que os péptidos apresentam para o tratamento de doenças o que despertou o interesse da indústria farmacêutica. No entanto, possuem algumas desvantagens que limitam a sua aplicação como a rápida degradação pelas proteases e a elevada flexibilidade, permitindo que estes se possam ligar a locais diferentes do local ativo. Uma das vias para eliminar estas limitações é a introdução de aminoácidos não naturais ou não proteinogénicos nas cadeias peptídicas pois confere resistência à degradação das proteases.²

1.4 Aminoácidos não proteinogénicos

Para além dos aminoácidos ditos proteinogénicos existe um grande número de aminoácidos não codificados pelo ADN, a maior parte dos quais produzidos por microrganismos, sendo conhecidos como aminoácidos não-proteinogénicos.^{5,6}

Os aminoácidos não-proteinogénicos são uma classe de compostos orgânicos com atividade biológica intrínseca e com largo espectro de aplicação em química medicinal. Podem ser encontrados em péptidos com atividade antiviral, anti-inflamatória e imunossupressora.⁷ A incorporação de aminoácidos não-proteinogénicos em péptidos e proteínas é importante para o aumento da sua bioatividade e resistência metabólica porque não são degradados pelas proteases e ainda podem ser importantes devido às suas propriedades fotofísicas.⁷ Entre os vários aminoácidos não-proteinogénicos existem os D-aminoácidos, os *N*-alquilaminoácidos, os α,β -desidroaminoácidos, as $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas, os β -aminoácidos e as alaninas β -substituídas.

1.4.1 D-Aminoácidos

Todos os aminoácidos, com exceção da glicina, possuem um carbono assimétrico (quiral) que lhe confere atividade ótica. Deste modo, a convenção de Fischer descreveu dois enantiómeros do gliceraldeído, nomeadamente as formas D e L, sendo a transposição para os aminoácidos estabelecida pela posição do grupo amina relativamente ao carbono α (Figura 3).

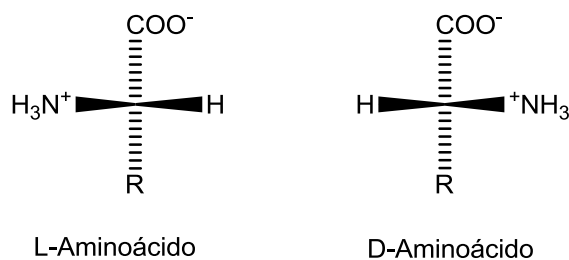


Figura 3: Enantiómeros D e L dos α -aminoácidos

Embora existam na natureza aminoácidos com configuração D, apenas os que têm configuração L entram na composição das proteínas.⁴ No entanto, resíduos de D-aminoácidos podem ser encontrados em alguns polipéptidos bacterianos relativamente curtos (<20 resíduos) nomeadamente como constituintes das paredes celulares bacterianas como é o caso da *Dermorfina* (figura 4). A *Dermorfina* é um heptapéptido isolado a partir da pele de rãs sul-americanas pertencentes à família *Phyllomedusa* tendo revelado elevada afinidade para os recetores opiáceos do tipo I, atuando como analgésico e sendo 30-40 vezes mais potente que a *Morfina*. A sequência dos seus aminoácidos é Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH₂.⁸

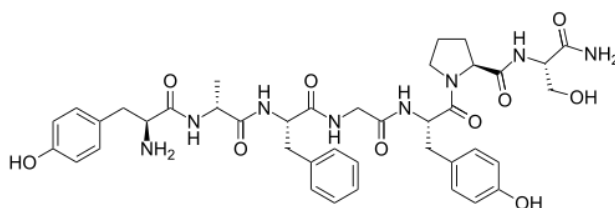


Figura 4. Estrutura da *Dermorfina*

1.4.2 β -Aminoácidos

Os β -aminoácidos (Figura 5) são compostos que diferem dos α -aminoácidos na ligação do grupo amina que em vez de se ligar ao carbono α se liga ao carbono β . Este tipo de compostos existe em menor escala em relação aos α -aminoácidos, mas podem ser encontrados em alguns péptidos e como constituintes de diversos produtos naturais. Um exemplo de composto que possuiu na sua constituição β -aminoácidos é o *Taxol* (Figura 6), agente anticancerígeno e ainda precursor de β -lactamas, que apresenta potencialidades como antibióticos.⁹

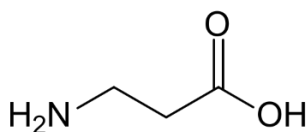


Figura 5: β -alanina, β -aminoácido mais simples

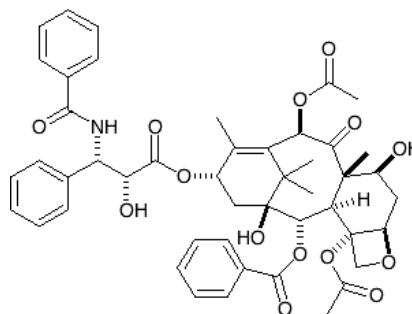


Figura 6: Estrutura do *Taxol*

1.4.3 Alaninas β -substituídas

As alaninas β -substituídas fazem parte de péptidos que apresentam atividades biológicas importantes, tais como atividade antibiótica e anti tumoral, podendo ainda atuar como inibidores enzimáticos.^{10,11} Existe um grande conjunto de aminoácidos não proteinogénicos com esta estrutura de base, nomeadamente, o *Ácido Quisqualico* isolado a partir da fonte vegetal *Quisqualis indica*, que apresenta atividade neuroexcitante,¹² e a *Tiroxina* (Figura 7), derivado da tirosina que é uma hormona da tireoide cuja função é estimular o metabolismo dos vertebrados⁴.

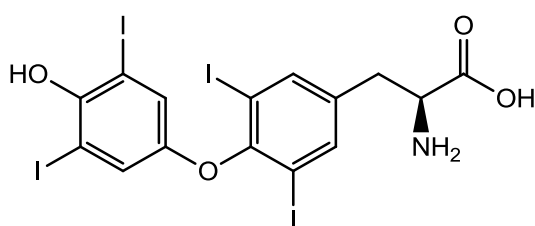


Figura 7: Estrutura da tiroxina

Diversos sistemas enzimáticos de plantas têm vindo a ser descritos como capazes de catalisar a síntese de alaninas β -substituídas heterocíclicas a partir da *O*-acetilserina por condensação de precursores apropriados^{13,14} promovendo a formação da ligação azoto-carbono entre o átomo de carbono β da desidroalanina e o heteroátomo do sistema heterociclífico.¹⁵

1.4.4 $C^{\alpha,\alpha}$ -Dialquilglicinas

As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas (Figura 8) são aminoácidos com impedimento estereoquímico em torno do átomo de carbono central e, por esta razão, são blocos de construção úteis na montagem de péptidos com conformações específicas.¹⁶⁻¹⁸ São os constituintes principais de vários antibióticos peptídicos¹⁹⁻²⁵ e podem ser encontradas em péptidos isolados a partir de algumas estirpes de fungos. Estes aminoácidos não codificados não são reconhecidos por enzimas proteolíticas e, a incorporação de glicinas dissustituídas em cadeias peptídicas insaturadas confere rigidez conformacional ao péptido, o que garante resistência à biodegradação.²⁶⁻²⁸

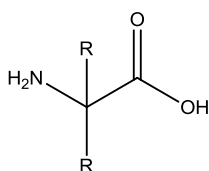
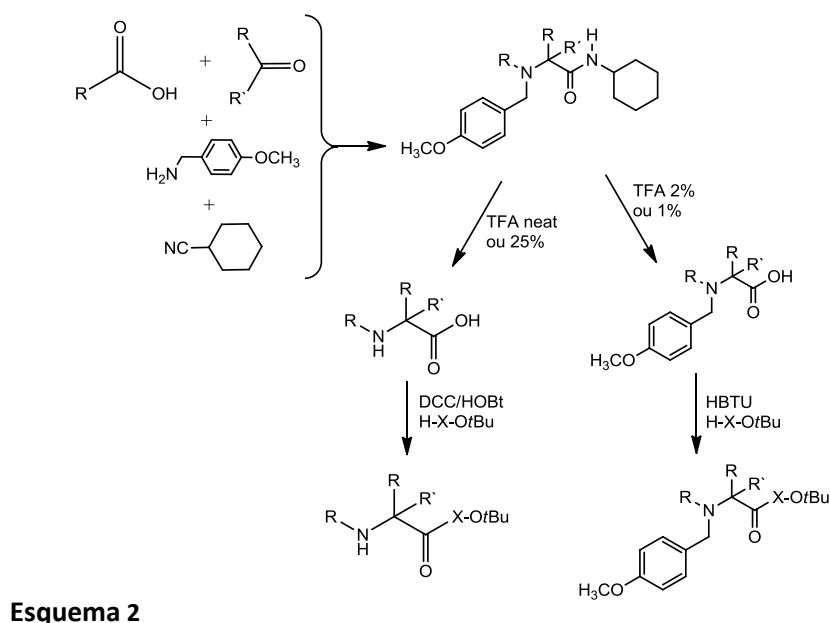


Figura 8: Dialquilglicina

No entanto, devido ao impedimento estereoquímico, a maioria desses aminoácidos são difíceis de sintetizar²⁹⁻³⁰ por métodos convencionais.³¹ De facto, as mesmas características estruturais que tornam estes aminoácidos interessantes e únicos para o desenvolvimento de fármacos peptídicos, também são responsáveis pelo desafio associado com a sua síntese e aplicação. Por conseguinte, existe um interesse no desenvolvimento de metodologias para a preparação simples e incorporação de tais aminoácidos em péptidos.

Em 1997 Ivar Ugi propôs uma reação de condensação de quatro compostos, como uma alternativa aos métodos clássicos de síntese de aminoácidos com base na química do isocianato, por reacção de uma amina, um composto de carbonilo, um ácido carboxílico e isocianeto (Esquema 2).³²⁻³⁴ Nádia Pinto et al. estiveram envolvidos na aplicação desta reação para a síntese simétrica de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas incorporadas em di-pentapéptidos. Devido à labilidade ácida invulgar da ligação amida C-terminal, foi possível ultrapassar os inconvenientes que impediam uma ampla aplicação desta reação multicomponente na síntese de péptidos $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas.³⁵⁻³⁷



1.4.5 Desidroaminoácidos

Desidroaminoácidos podem ser encontrados em péptidos de origem fúngica, bacteriana e organismos marinhos³⁸, no qual eles desempenham um papel catalisador nos locais ativos de algumas enzimas. Podem também ser encontrados numa variedade de antibióticos de origem bacteriana que inclui lantibióticos como *Nisina*, *Epidermina*, *Subtilina* e *Galidermina*.³⁹

Os α,β -desidroaminoácidos (Figura 9) possuem uma dupla ligação entre o carbono α e o carbono β . Quando inseridos em péptidos afetam a reatividade química e a sua conformação, permitindo o estudo da relação estrutura-atividade (SAR).⁴⁰

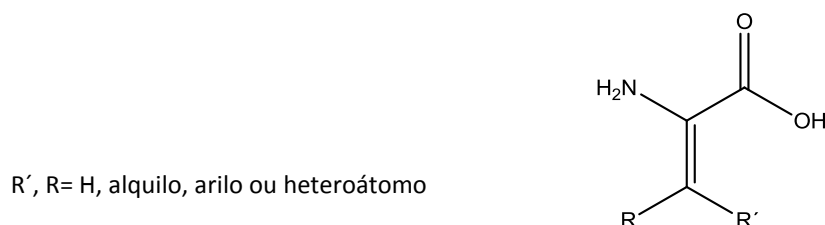


Figura 9: α,β -Desidroaminoácidos

Em vários péptidos biologicamente ativos, a maioria dos quais de baixo peso molecular e estrutura cíclica, foram encontrados resíduos de α,β -desidroaminoácidos os quais tem sido estudados extensivamente por vários autores. A descoberta dessa grande variedade de compostos biologicamente ativos tem aumentado o interesse na separação, identificação e estudo de péptidos contendo desidroaminoácidos. A *Estendomicina* é um péptido antimicótico que possui na sua constituição resíduos de desidroalanina e ácido desidroaminobutírico e que previne o crescimento de várias bactérias. A *Subtilina* (Figura 10) é um antibiótico polipeptídico contendo 32 aminoácidos com os mesmos resíduos da *Estendomicina* e inibe o crescimento de bactérias como a *Sarcina lutea*. Existem outros péptidos mais pequenos contendo entre 2 a 5 resíduos de α,β -desidroaminoácidos que também possuem atividade biológica.⁴¹

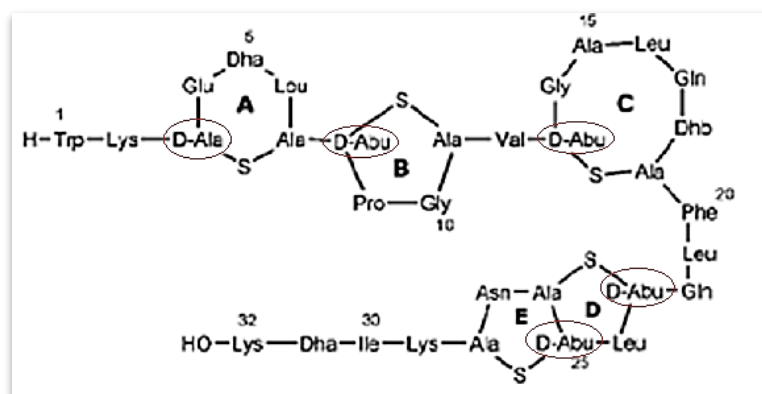


Figura 10: Estrutura da *Subtilina*

A presença de resíduos de aminoácidos α,β -insaturados em cadeias peptídicas provoca alterações nas propriedades químicas e biológicas dos péptidos. O arranjo dos átomos da ligação peptídica e da ligação dupla é uma estrutura planar rígida, uma vez que a ligação dupla está conjugada com a ligação peptídica. Esta conjugação influencia tanto a conformação da cadeia principal, como da cadeia lateral. Para além disto, perde-se a quiralidade característica dos α -aminoácidos e aparece o isomerismo E/Z, o que torna estes compostos em alvos para estudos conformacionais.⁴²⁻⁴³

A via principal para a obtenção de derivados de α,β -desidroaminoácidos são as reações de β -eliminação a partir de precursores que contêm resíduos de serina, cisteína ou treonina para originar o desidroaminoácido respetivo, a desidroalanina (Δ Ala) ou o ácido desidroaminobutírico (Δ Abu).

Outra via conhecida para a síntese de derivados de α,β -desidroaminoácidos é a desidratação de *N*-hidroxiaminoácidos obtidos por *N*-hidroxilação de aminoácidos ou péptidos por condensação de α -ceto ácidos ou amidas ou ainda por oxidação direta de aminoácidos.⁴⁴⁻⁴⁷

Os desidroaminoácidos podem ser usados como substratos em reações de adição nucleófila originando novos aminoácidos β -substituídos.⁴⁸

1.4.5.1 Síntese de desidroaminoácidos por reações de eliminação

O método mais simples para a síntese de desidroaminoácidos é por reações de β -eliminação a partir de β -hidroxiaminoácidos.

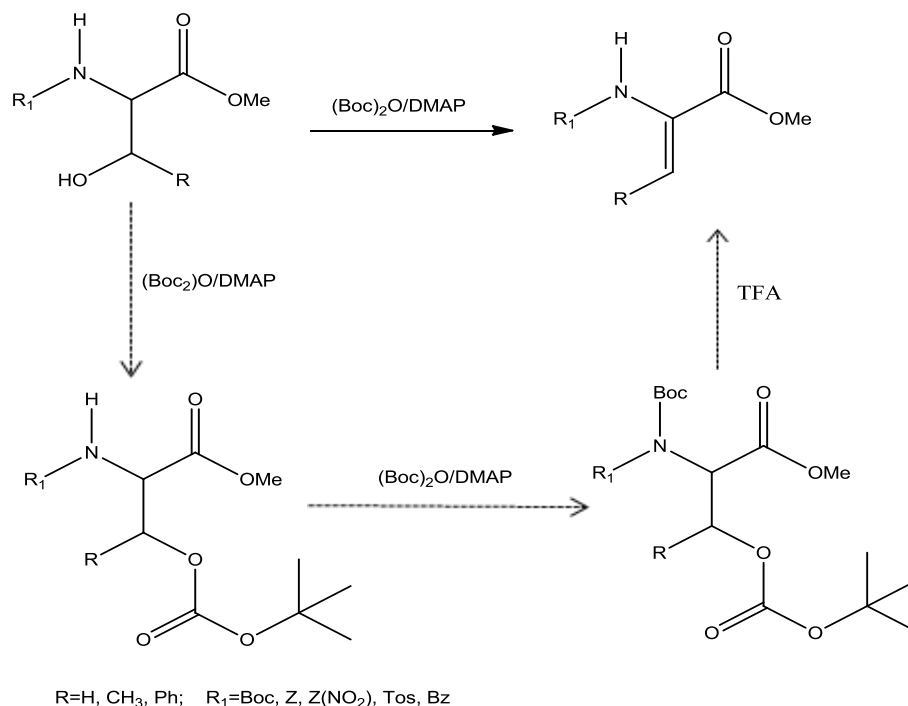
Derivados de serina e treonina têm sido usados como precursores em reações de eliminação dando origem a desidroalanina e ácido desidroaminobutírico, respetivamente. Inicialmente, usou-se trifenilfosfina e dietilazodicarboxilato como reagentes de desidratação obtendo-se os compostos desidratados com rendimentos moderados. Contudo, no caso dos derivados do ácido desidroaminobutírico, este método levava à formação de uma mistura 1:1 de isómero *E* e *Z*.⁴⁹

Uma das alternativas encontradas foi o tratamento dos esteres metílicos do *N*-benziloxicarbonilserina e *N*-benziloxicarboniltreonina com carbonato de di-succinimida e trietilamina em acetonitrilo, resultando no aumento do rendimento (90% e 70%, respetivamente).⁵⁰ Nestas condições, a reação foi estereosseletiva originando apenas o isómero *Z* do ácido desidroaminobutírico.

O método descrito por Nugent⁵¹ para a síntese de desidroaminoácidos a partir de β -hidroxiaminoácidos, demonstra que a introdução de um segundo grupo volumoso no átomo de azoto pode facilitar a reação de eliminação e, consequentemente aumentar os rendimentos.

Um método de introdução de grupos volumosos em *N*-acilaminoácidos foi desenvolvido por Ragnarsson et al.⁵² Este método consiste na introdução do grupo *tert*-butiloxicarbonilo no átomo de azoto de aminas *N*-aciladas por reação destas com pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de dimetilaminopiridina (DMAP). Por reação de derivados de β -hidroxiaminoácidos com 2 eq. de pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de DMAP, Ferreira et al.^{53a} conseguiram simultaneamente formar o derivado carbonato de *tert*-butilo e introduzir o grupo Boc como segundo grupo acilante. Este carbonato sofre eliminação com formação do correspondente derivado de desidroaminoácido. Assim, os esteres metílicos da serina, da treonina e da β -hidroxifenilalanina protegidos com os grupos *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), o grupo benziloxicarbonilo (*Z*), *N*-(4-nitrobenzil)oxicarbonil [*Z*(NO₂)], o grupo toluenesulfonilo (Tos) e o grupo benzoílo (Bz), fizeram-se reagir com 2 eq. de pirocarbonato de *tert*-

butilo na presença de DMAP como catalisador em acetonitrilo seco, obtendo-se os correspondentes desidroaminoácidos com excelentes rendimentos^{53a} (Esquema 3).

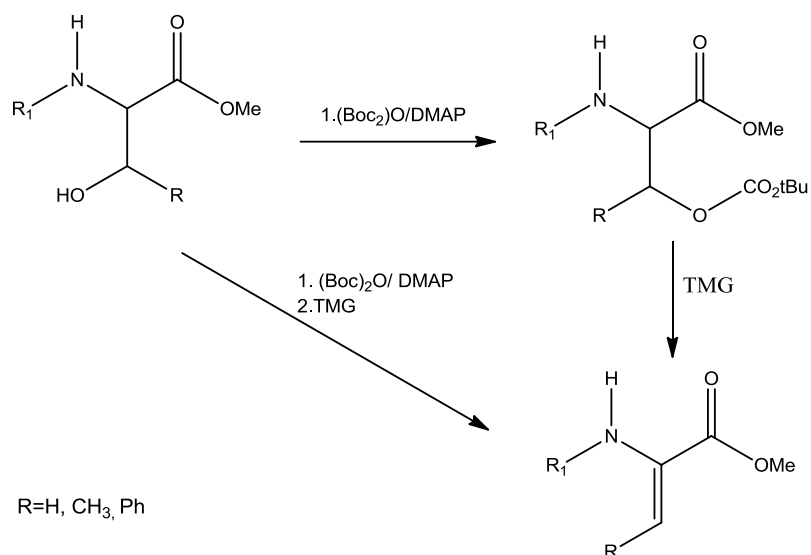


Esquema 3

Este método revelou-se estereosseletivo dando origem apenas ao isómero Z dos derivados do ácido desidroaminobutírico e da desidrofenilalanina.

Dada a sua eficácia, este método foi aplicado à preparação de desidrodipéptidos. Ferreira et al.^{53b,54} fizeram reagir dipéptidos contendo serina, treonina ou β-hidroxifenilserina com 3 eq. de pirocarbonato de *tert*-butilo obtendo-se desidrodipéptidos com elevados rendimentos (74-96%).

Com o uso deste excesso de equivalentes de pirocarbonato de *tert*-butilo a reação ocorre em duas etapas, 2 eq. são necessários à acilação dos dois átomos de azotos do dipéptido e o terceiro equivalente para formar o carbonato com o carbono β do hidroxiaminoácido. Ferreira et al.⁵⁴ desenvolveram outro método de preparação de desidroaminoácidos *N*-monoprotetidos usando apenas um equivalente de (Boc₂)O para formação do carbonato e o uso de *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina para induzir a eliminação deste com subsequente formação da dupla ligação entre o carbono α e o carbono β. Esta alteração permitiu obter derivados de desidroaminoácidos monoacilados com bons rendimentos (65-95%) (Esquema 4).



Esquema 4

1.4.6 *N*-alquilaminoácidos

N-Alquilaminoácidos são uma classe de aminoácidos não proteínogénicos⁵⁶ existente na natureza especialmente em organismos marinhos⁵⁷. *N*-Metilaminoácidos são encontrados na natureza como compostos livres e como constituintes estruturais de vários péptidos como a *Ciclosporina*⁵⁸, a *Dolastatina*⁵⁹ (Figura 11) e a *Didemnina*⁶⁰ (Figura 12).

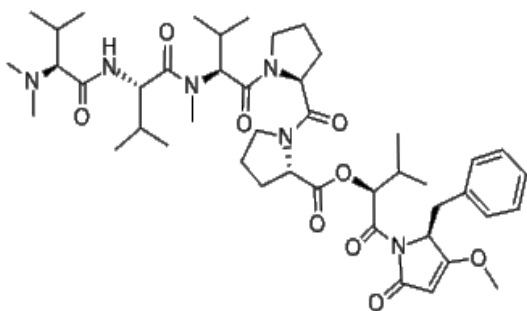


Figura 11: Estrutura da *Dolastatina*

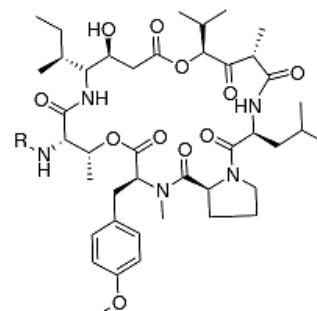


Figura 12: Estrutura da *Didemnina*

Estes aminoácidos têm sido aplicados como blocos sintéticos de construção em química medicinal e para estudos estruturais ou de atividades biológicas.⁵⁶ Os *N*-alquilaminoácidos à semelhança das $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas podem ser utilizados como precursores na síntese dos péptidos, com o objetivo de alterar a conformação e

restringir a flexibilidade, aumentando assim a seletividade para um recetor e também para induzir uma melhoria no tempo de ação.⁶¹⁻⁶³

Em estudos efetuados sobre este tipo de compostos têm permitido concluir que a substituição do grupo metilo ligado à amina por um grupo alquilo maior favorece a atividade de determinados péptidos.⁶⁴ Um dos exemplos conhecidos é o da ciclosporina (Figura 13) em que a substituição da *N*-metilleucina por vários *N*-etilaminoácidos conduz à obtenção de análogos que exibem um aumento na atividade imunossupressora e anti-HIV.⁶⁵

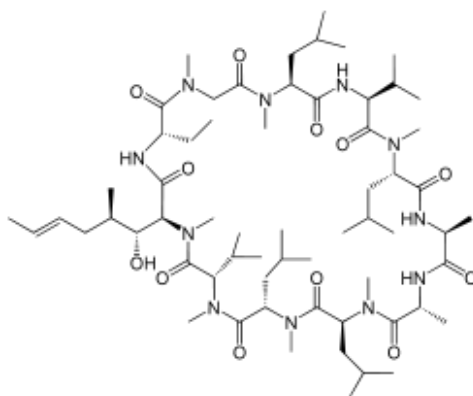


Figura 13: Estrutura da *Ciclosporina*

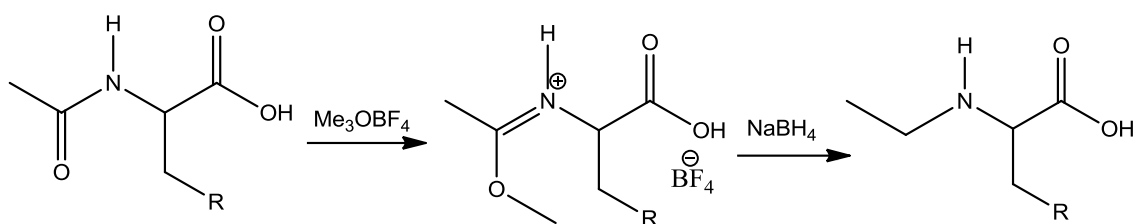
Dado o interesse destes compostos houve necessidade de procurar métodos de síntese que se revelassem altamente eficientes e quimiosseletivos, nomeadamente por alquilação direta de aminoácidos *N*-protegidos e esteres de aminoácidos e, ainda por substituição nucleófila de ácidos carboxílicos com um grupo de saída na posição α das aminas.⁶⁶

Apesar da diversidade de métodos desenvolvidos para a *N*-alquilação, a maioria concentra-se na preparação de derivados *N*-metilados. A incorporação do grupo metilo no átomo de azoto em diferentes cadeias peptídicas melhora a estabilidade proteolítica, aumenta a rigidez conformacional e pode alterar também as propriedades de transporte.⁶⁷ Apenas alguns métodos de síntese de *N*-etilaminoácidos estão descritos.⁶⁸

Um dos métodos desenvolvidos para *N*-alquilação de aminoácidos consiste no tratamento com bases fortes seguido da adição de um composto alquilante

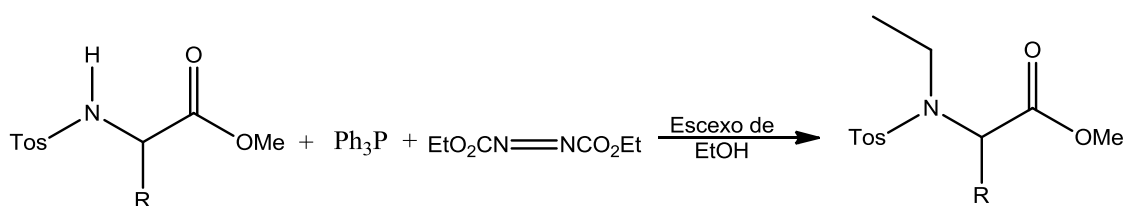
nucleofílico. Este método requer dois passos na reação e revelou-se eficaz na preparação de derivados *N*-metilados. No entanto, o mesmo não acontece quando usamos este método para *N*-alquilação de dipéptidos.⁶⁹ Por outro lado, o uso de bases fortes pode levar à racemização dos aminoácidos.⁷

Chen e Benoiton⁷⁰ fizeram reagir *N*-acetilaminoácidos com tetrafluoroborato de trimetiloxônio dando origem ao fluoroborato do iminoéter que por reação com borohidreto de sódio dá origem a *N*-etilaminoácidos (Esquema 5).



Esquema 5

Um outro método, desenvolvido por Papaioannou et al.⁷¹, consiste na *N*-etilação do éster de *N*-tosilaminoácidos na presença de um sistema redox: trifenilfosfina /azodicarboxilato de dietilo usando um excesso de etanol. Este método resulta na formação de derivados *N*-etilados com rendimentos elevados (Esquema 6) contudo o processo de remoção do grupo *N*-protetor revela algumas dificuldades tendo sido necessário a sua clivagem por via eletroquímica.



Esquema 6

Os processos descritos anteriormente apresentam alguns inconvenientes pelo que houve necessidade de desenvolver outro método mais simples e eficaz para sintetizar *N*-etilaminoácidos.

Belsito et al.⁷² propuseram um método de *N*-alquilação de aminoácidos no qual pretendiam usar:

- uma base fraca ou diluída de forma a evitar a racemização;
- um processo *one-pot*, sem necessitar de aquecimento;
- um grupo protetor adequado da função amina para evitar a formação do composto dietilado e aumentar a acidez do, próton NH, nomeadamente o grupo 4-nitrobenzenesulfonilo.

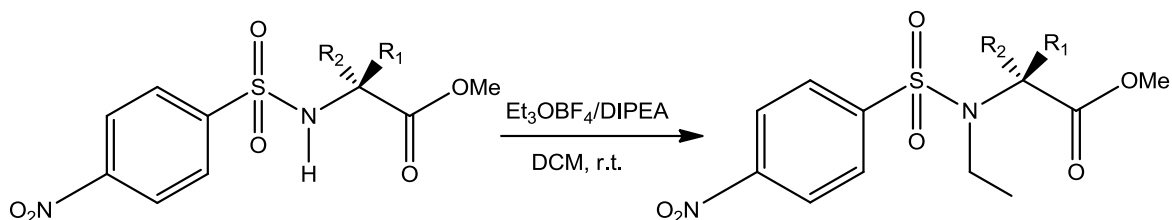
Fukuyama⁷³ propôs o uso do grupo protetor 4-nitrobenzenesulfonilo (Nosilo) que tem um forte efeito eletroretirador. Este grupo, para além de atuar como grupo protetor, atua também como agente ativante, aumentando a acidez do hidrogénio da sulfonamida, permitindo uma rápida desprotonação, fazendo aumentar a reatividade em relação a diversos agentes alquilantes.⁷⁴⁻⁷⁶

Os grupos *N*-arilsulfonilo são também utilizados como farmacóforos, especialmente quando substituídos por halogéneos na posição 4 do grupo arilo⁷⁷. *N*-Arilsulfoniloaminoácidos são constituintes de metaloprotéases e inibidores da anidrase carbónica,⁷⁸ possuindo uma ampla bioatividade, nomeadamente antibacteriana, antidiabética, diurética e efeitos antitiróide.⁷⁹ Recentemente, estes fármacos foram testados como inibidores da protéase de HIV em terapia retroviral⁸⁰, e alguns deles estão sob avaliação clínica por possuírem potencial atividade antiviral.⁸¹

Todo o conhecimento sobre este tipo de compostos é importante uma vez que contribui para o desenvolvimento de novas classes de inibidores de metaloprotéases⁸² sendo também importante para estudos de relação quantitativa estrutura-atividade (QSAR).

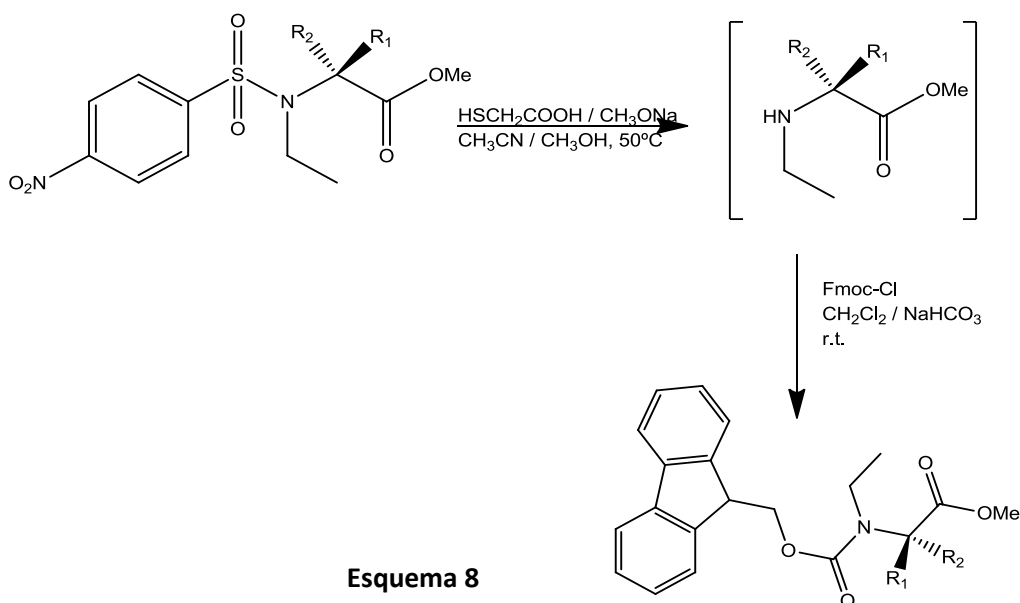
Assim, Belsito et al.⁷² propuseram a etilação de vários aminoácidos protegidos com o grupo 4-nitrobenzenessulfonilo utilizando tetrafluoroborato de trietiloxónio (Et_3OBF_4) como agente de alquilação e *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) como base para obter derivados de *N*-etilaminoácidos. A reação de Nosil-Ala-OMe com 2,5 eq. de Et_3OBF_4 e 3,5 eq. de DIPEA levou à formação do produto *N*-etilado [Nosil-*N*(Et)-Ala-OMe] com ótimo rendimento. O mesmo procedimento foi efetuado com outros aminoácidos como o ácido glutâmico, a lisina, a cisteína e a treonina, com cadeias laterais protegidas com os grupos *terc*-butiloxicarbonilo (Boc), o grupo *terc*-butilo (*t*Bu)

ou o grupo benzilo (Z), ocorrendo a formação do produto *N*-etilado com rendimentos entre 85-94% (Esquema 7).



Esquema 7

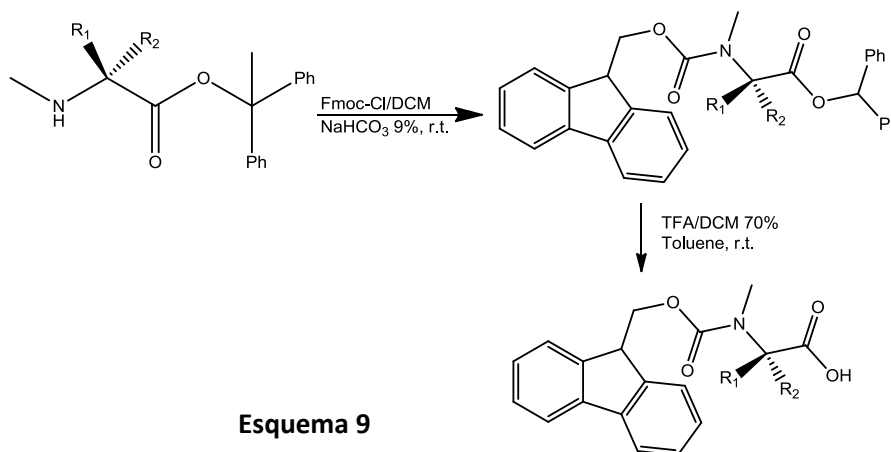
Para além dos grupos protetores referidos, os autores demonstraram que também havia compatibilidade com a química do grupo fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc). Inicialmente, removeram o grupo protetor nosilo usando ácido mercaptoacético e metóxido de sódio em acetonitrilo/metanol levando à formação da amina livre. Seguidamente, a função amina é protegida com o grupo Fmoc por tratamento com cloreto do Fmoc e carbonato de potássio 9% em diclorometano dando origem ao éster metílico do *N*-Fmoc-etilaminoácido com excelente rendimento (Esquema 8).^{72,83}



Esquema 8

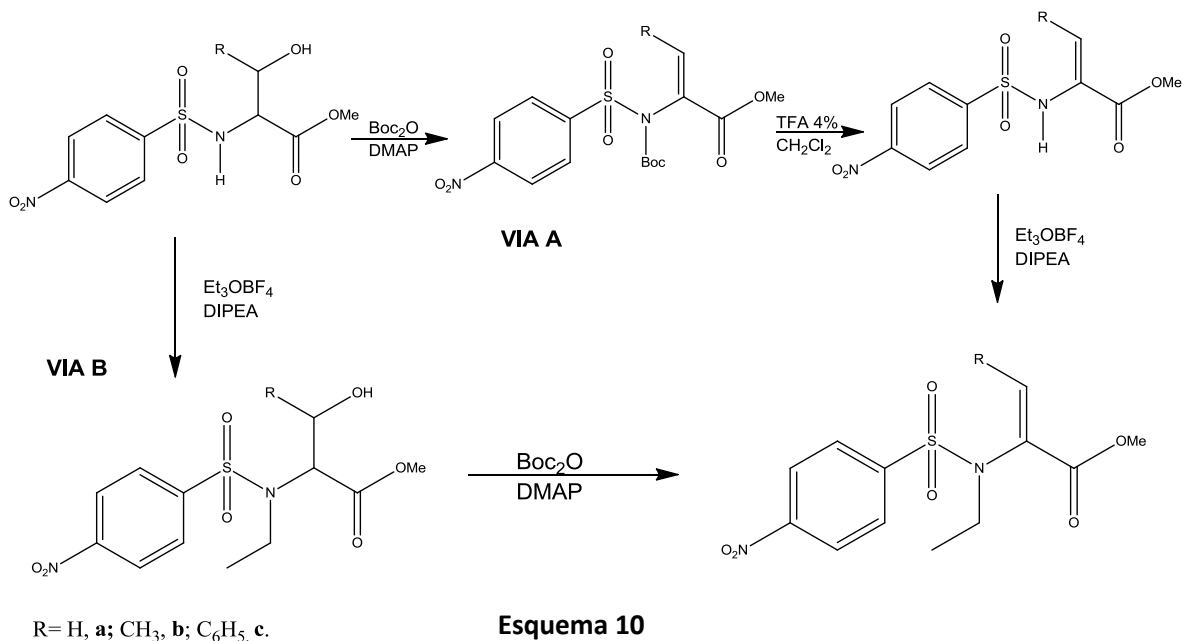
Gioia et al.⁸³ preparam compostos *N*-protegidos com o grupo Fmoc e verificaram a aplicabilidade deste derivado na incorporação de aminoácidos *N*-metilados em cadeias pépticas por síntese em fase sólida. O trabalho por eles

desenvolvido consistia na reação de ésteres benzídrilicos de *N*-metilaminoácidos suspensos com Fmoc-Cl em diclorometano levando à formação de esteres benzídrilicos de *N*-Fmoc-*N*-aminoácidos com bons rendimentos, 85-95%. Subsequentemente, ocorreu a desproteção do ácido carboxílico usando ácido trifluoroacético em diclorometano originando os esteres benzílicos de *N*-Fmoc-*N*-metilaminoácidos com excelentes rendimentos (94-98%) (Esquema 9).

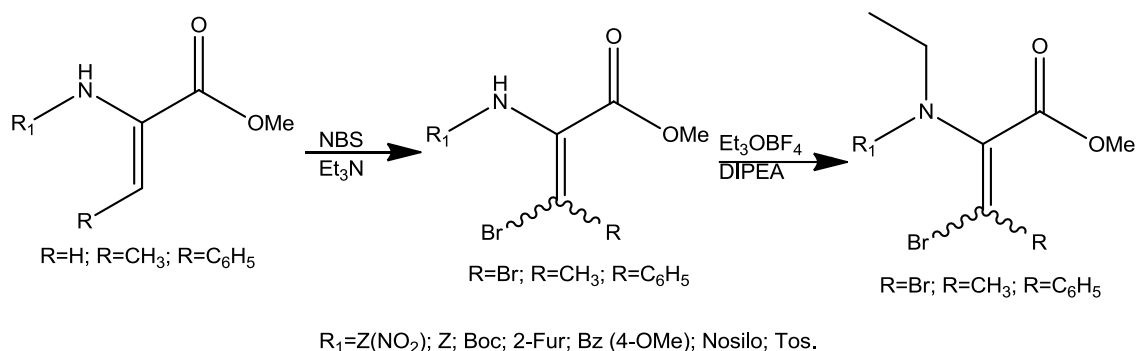


Monteiro et al.⁸⁴ preparam ésteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonilo)-*N*-etil-desidroaminoácidos a partir de ésteres metílicos *N*-(4-nitrobenzenesulfonilo)- β -hidroxiaminoácidos por uma sequência de desidratação (*tert*-butilpirocarbonato e *N,N*-dimetilaminopiridina) e *N*-etilação (tetrafluoroborato de trietiloxônio e *N,N*-diisopropiletilamina), método já descrito por Belsito et al. (Esquema 10, Via A) ou por uma sequência de *N*-etilação seguida de desidratação (Esquema 10, Via B). Na via de síntese A, o passo após a formação dos esteres de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)- β -hidroxiaminoácidos era a desidratação deste usando 2.0 eq. de pirocarbonato de *tert*-butilo e DMAP levando à formação do éster metílico de *N*-(*tert*-butiloxicarbonilo)-*N*-(4-nitrobenzenesulfonilo)- α,β -desidroaminoácido. A formação deste composto requer uma etapa de desproteção tratando o composto com uma solução 4% de TFA em diclorometano dando origem ao derivado do *N*-Nosil- α,β -desidroaminoácido. Em seguida procede-se à *N*-alquilação usando 2.5 eq. de tetrafluoroborato de trietiloxônio e 3.5 eq. de *N,N*-diisopropiletilamina em diclorometano seco, originando o derivado do *N*-Nosil-*N*-etil- α,β -desidroaminoácidos. Uma forma de evitar todos esses passos consiste no método descrito pela Via B, em que, inicialmente, o éster metílico do *N*-(4-nitrobenzenesulfonilo)- β -hidroxiaminoácidos é tratado com 1.0 eq. de

tetrafluoroborato de trietiloxônio e 3.5 eq. de *N,N*-diisopropiletilamina em diclorometano seco originando o respectivo *N*-Nosil-*N*-etil-aminoácido. Em seguida procede-se à desidratação usando 2.0 eq. de *tert*-butilpirocarbonato e DMAP originando ao derivado de *N*-Nosil-*N*-etil- α,β -desidroaminoácido respectivo (Esquema 10).



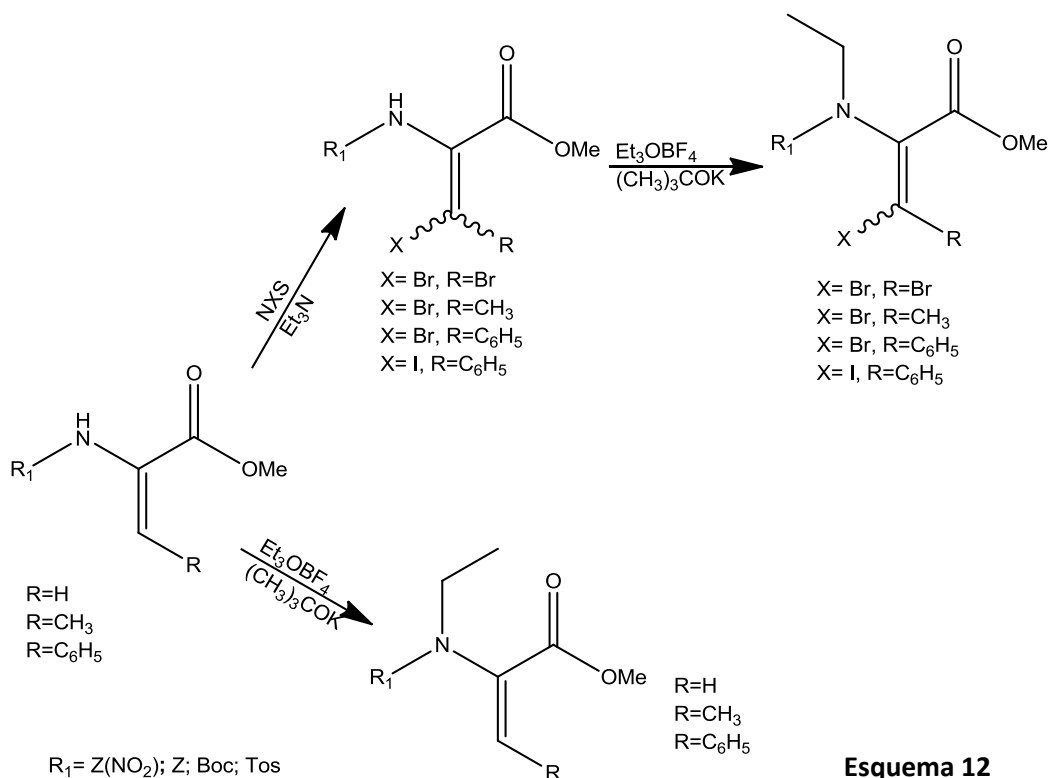
Posteriormente, Monteiro et al.⁸⁵ sintetizaram *N*-etildesidroaminoácidos β -halogenados com diferentes grupos protetores da função amina. Foram preparados derivados de desidroaminoácidos a partir de β -hidroxiaminoácidos *N*-protegidos com grupos uretano, acilo e sulfonilo. Estes *N*-acildesidroaminoácidos reagiram com *N*-bromosuccinimida e trietilamina para dar os correspondentes derivados de β,β -dibromodesidroalaninas e β -bromodesidroaminoácidos β -substituídos. Estes compostos foram sujeitos a *N*-etilação nas condições anteriormente descritas. Dependendo da natureza do desidroaminoácido β -halogenado e do grupo protetor, obtiveram-se diferentes rendimentos em produto *N*-etilado (entre 30 e 93%) (Esquema 11).



Esquema 11

Alguns destes derivados de *N*-etildesidroaminoácidos foram usados com sucesso em reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborónico.

Recentemente, Monteiro et al.⁸⁶ exploraram uma possível alternativa ao uso de grupos protetores fortemente eletroretiradores que aumentem a acidez do próton NH, nomeadamente o uso de bases auxiliares fortes como *tert*-butóxido de potássio. Nestas condições, a reação foi completa para todos os derivados de *N*-acil-β-halodesidroaminoácidos, obtendo-se bons rendimentos em produto *N*-etilado. Este método foi ainda aplicado à *N*-etilação de desidroaminoácidos não-halogenados com grupos protetores uretano e com o grupo 4-toluenesulfonilo, para dar derivados de *N*-etildesidroaminoácidos com rendimentos elevados (Esquema 12).



Esquema 12

Para demonstrar a aplicabilidade destes compostos em síntese peptídica, alguns ésteres metílicos de *N*-etildesidroaminoácidos sofreram clivagem do éster e foram acoplados com um éster metílico de um aminoácido, possibilitando a formação de *N*-etildesidrodipeptidos com bons rendimentos.

O projeto desenvolvido nesta tese vem na sequência destes trabalhos e pretende contribuir para a síntese de novos aminoácidos não-naturais que incorporam, simultaneamente, as características de *N*-alquilaminoácidos e $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas. Posteriormente, esta metodologia foi aplicada na síntese de dipéptidos não-naturais que incorporam, simultaneamente, as características de *N*-alquilaminoácidos, desidroaminoácidos e $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas. Quer os aminoácidos quer os dipéptidos poderão ser aplicados na síntese de péptidos com possível ação farmacológica.

Capítulo 2

Resultados e

Discussão

O tratamento de algumas doenças prevê muitas vezes o uso de fármacos resultantes de alterações e modificações em compostos naturais. Daí o interesse pelo estudo da atividade farmacológica de péptidos e de suas modificações estruturais.

Os péptidos atuam por ligação a moléculas aceitadoras ou recetoras, mas a sua aplicabilidade terapêutica como fármacos não se generalizou devido à sua baixa estabilidade metabólica em relação às enzimas do trato gastrointestinal e elevada flexibilidade conformacional, que conduz a perda de especificidade e/ou ativação de processos biológicos não desejáveis. Neste sentido, uma das vias encontradas para viabilização do uso de péptidos como fármacos foi a incorporação de aminoácidos não-proteinogénicos nas cadeias peptídicas, sendo alguns deles as $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas, os desidroaminoácidos e os *N*-alquilaminoácidos. A escolha deste tipo de compostos revelou-se importante uma vez que possuem um largo espectro de aplicação em química medicinal, tendo atividade biológica intrínseca ou podem ser encontrados em péptidos com atividade antiviral, anti-inflamatória e imunossupressora. Os aminoácidos não-proteinogénicos são essenciais para o aumento da bioatividade de péptidos, aumentam a resistência metabólica e ainda podem ser importantes devido às suas propriedades fotofísicas.

As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas podem ser encontradas em antibióticos que exibem atividade biológica e a sua incorporação em cadeias peptídicas insaturadas confere rigidez conformacional ao péptido, garantindo a resistência à biodegradação.

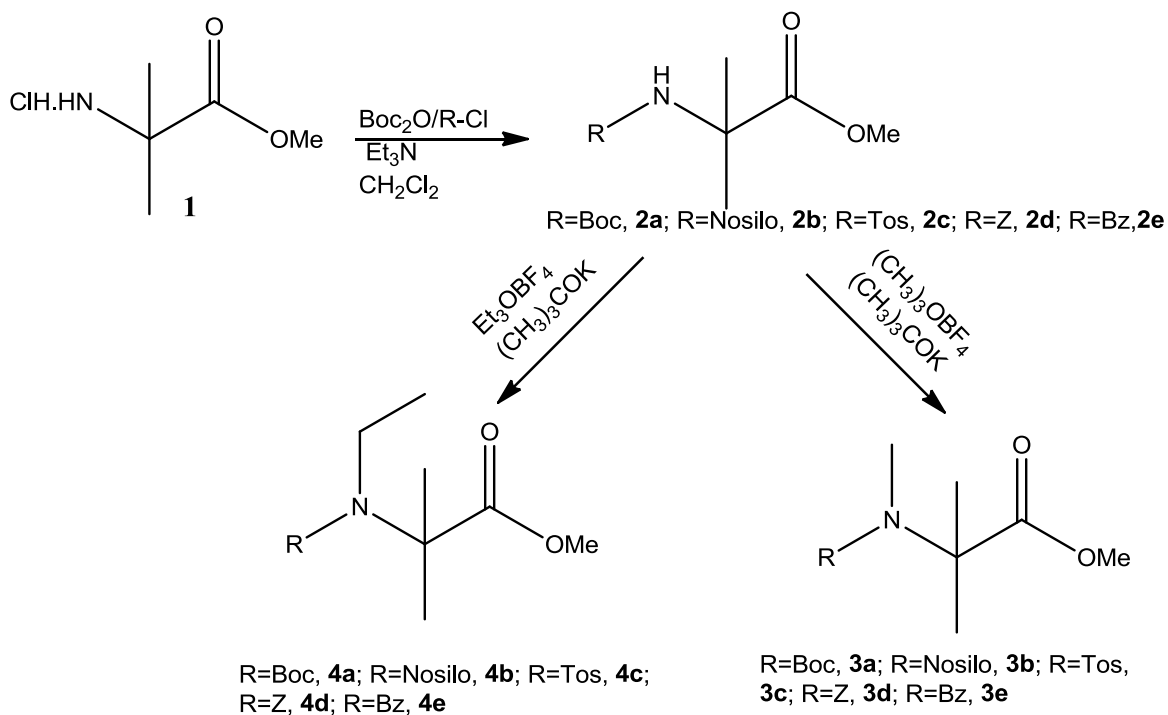
Os desidroaminoácidos têm um papel importante quando inseridos em péptidos pois afetam a reatividade química e a conformação permitindo o estudo da relação estrutura-atividade.³²

A introdução de *N*-alquilaminoácidos em péptidos biologicamente ativos permite alterar a conformação e restringir a flexibilidade destes, aumentando assim a seletividade em relação a um recetor e uma melhoria no tempo de ação.⁵¹⁻⁵³

Neste contexto, o trabalho desenvolvido neste projeto pretende contribuir para a síntese de novas $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas *N*-alquiladas e também de dipéptidos que incorporam, simultaneamente, as características de *N*-alquilaminoácidos, desidroaminoácidos e $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas. Quer os derivados de aminoácidos, quer os

derivados de péptidos poderão eventualmente ser aplicados na síntese de péptidos com ação farmacológica.

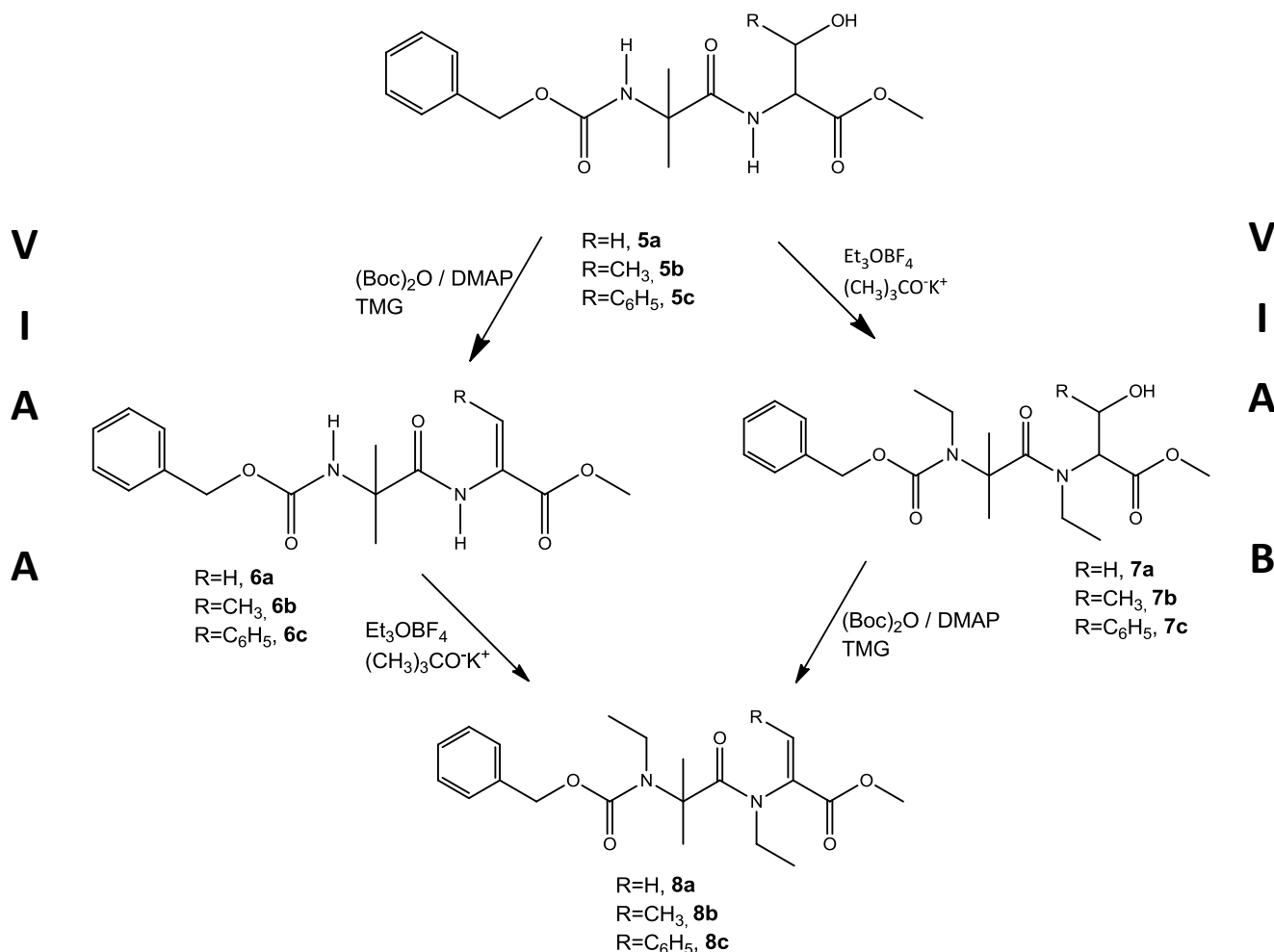
De modo a obter $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas *N*-alquiladas, o éster metílico do aminoácido não-natural dimetilglicina (Aib), foi protegido com diferentes grupos protetores nomeadamente, o grupo *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), o grupo benziloxicarbonilo (Z), o grupo 4-nitrobenzenesulfonilo (Nosilo), o grupo 4-toluenesulfonilo (Tos) e o grupo benzoílo (Bz). De seguida, procedeu-se à *N*-metilação e *N*-etilação dos mesmos por reação com tetrafluoroborato de trimetiloxónio e tetrafluoroborato de trietiloxónio, respetivamente, na presença de *tert*-butóxido de potássio como base auxiliar (Esquema 13). As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas *N*-protegidas e os seus derivados *N*-alquilados foram obtidos com bons rendimentos (63-97%).



Sintetizados os derivados de Aib *N*-alquilados procedeu-se no sentido de sintetizar dipéptidos contendo resíduos de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas e desidroaminoácidos de forma a aplicar a mesma metodologia de *N*-alquilação.

Foram sintetizados dipéptidos fazendo reagir a *N*-benziloxicarbonil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com o éster metílico de β -hidroxiaminoácidos (serina, treonina e

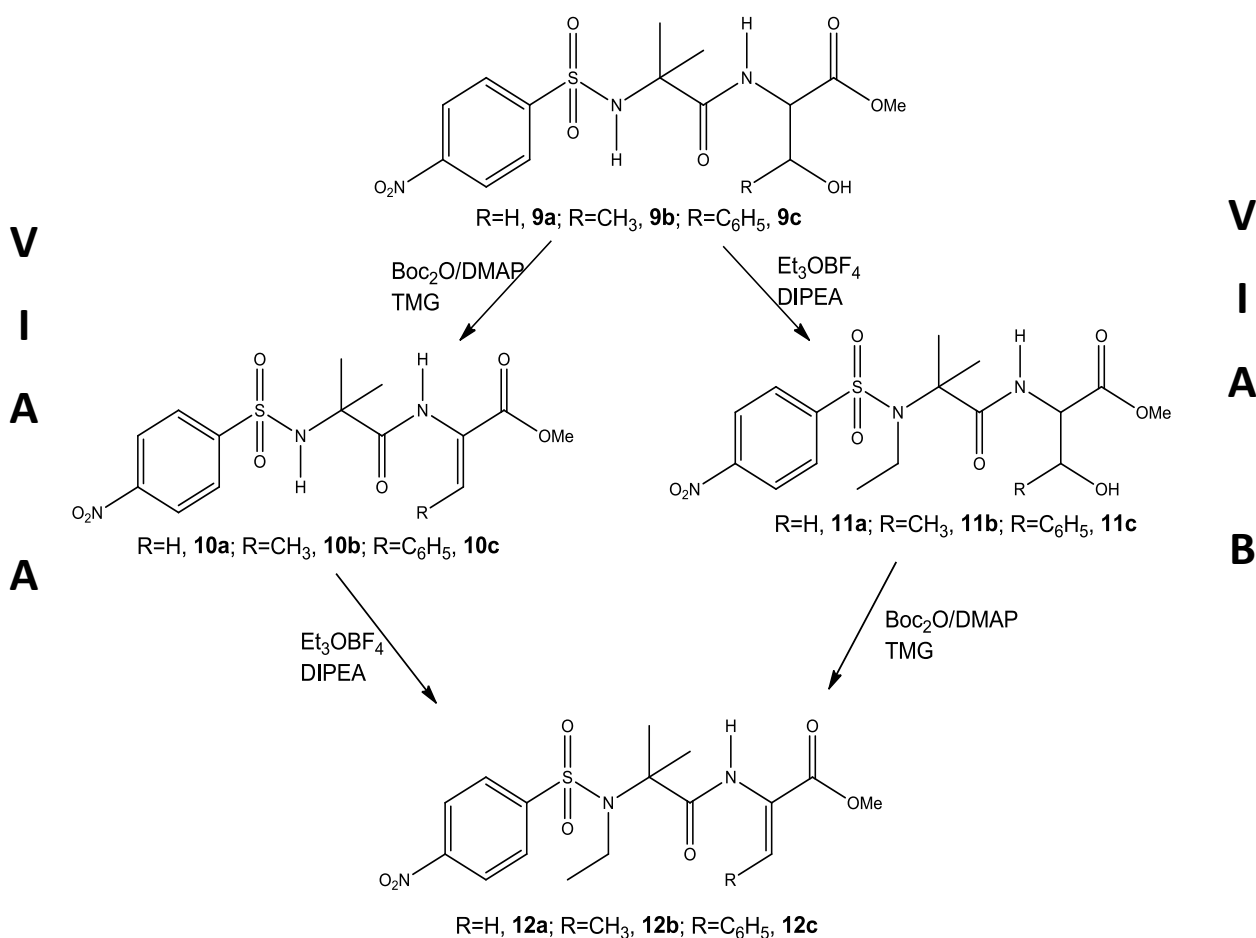
fenilserina) na presença de diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) e 1-hidroxibenzotriazole (HOBt). Em seguida procedeu-se à sua desidratação e/ou *N*-alquilação (Esquema 14).



Esquema 14

Assim, seguiram-se duas vias de síntese distintas: pela via A iniciava-se o processo de desidratação (pirocarbonato de *terc*-butilo e DMAP) e posteriormente a *N*-alquilação (tetrafluoroborato de trietiloxónio e *terc*-butóxido de potássio); e pela via B seguiu-se a sequência inversa. Contudo, não foi possível obter o composto pretendido, pois o espectro de RMN de próton indicava a existência de uma mistura complexa que, não foi possível purificar por cromatografia em coluna. A análise do espectro levou-nos a concluir que poderá ter ocorrido a formação de misturas de dipéptidos mono- e di-etilados. Houve, então, a necessidade de procurar uma via alternativa. Atendendo aos estudos desenvolvidos por Belsito et al., tentou-se a preparação de dipéptidos *N*-protegidos com o grupo 4-nitrobenzenesulfonilo. A escolha deste grupo protetor deve-

se ao seu forte efeito eletroretirador que atua como agente ativante, aumentando a acidez do hidrogénio da sulfonamida, aumentando a reatividade em relação a diversos agentes alquilantes.⁷⁴⁻⁷⁵ Este efeito eletroretirador aumentado evita a necessidade de usar uma base forte para a remoção do hidrogénio da sulfonamida, permitindo a substituição da base forte *terc*-butóxido de potássio por uma base mais fraca *N,N*-diisopropiletilamina. Deste modo, seguiu-se o mesmo procedimento, usando as duas vias de síntese, acima mencionadas levando à formação dos dipéptidos mono-etilados e, simultaneamente, desidratados com bons rendimentos (69-91%) (Esquema 15).

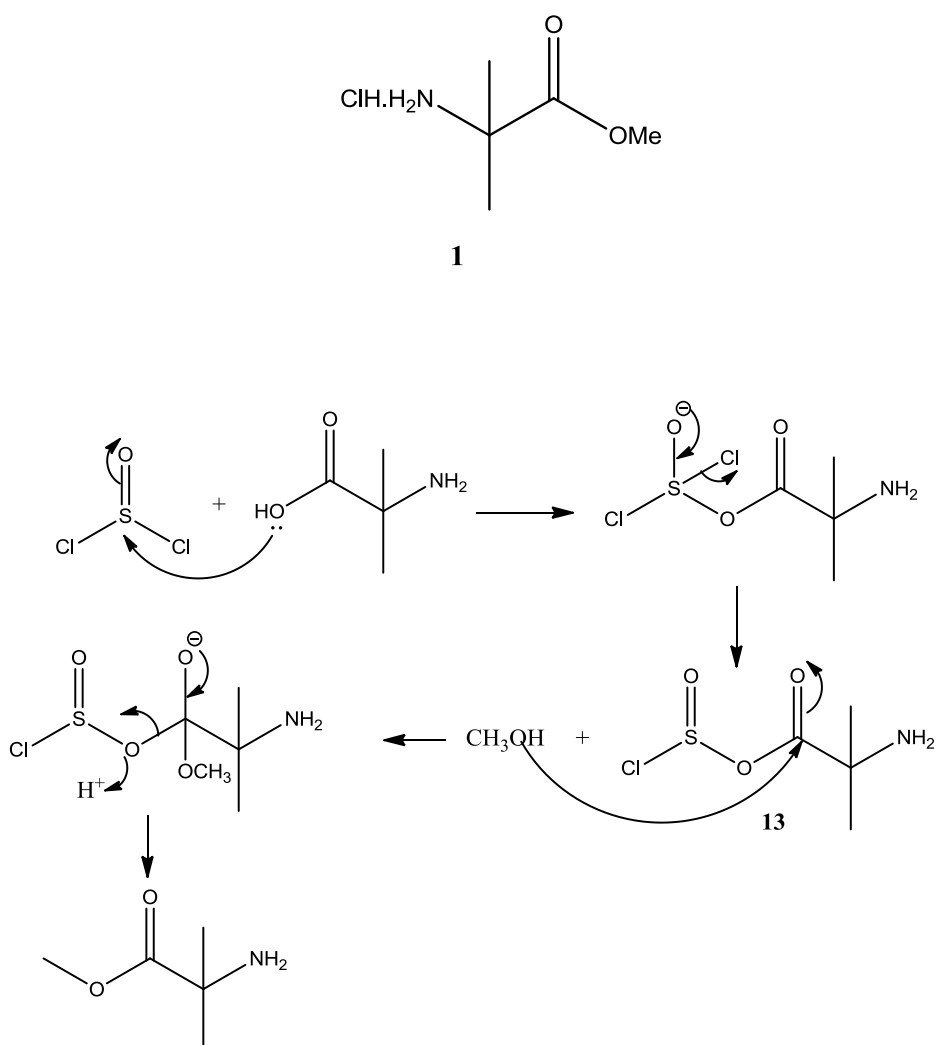


Esquema 15

2.1 Síntese de ésteres metílicos de *N*-acil, *N*-alquil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas

2.1.1 Síntese do éster metílico da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina

Inicialmente, sintetizou-se o cloridrato do éster metílico da dimetilglicina usando uma solução de cloreto de tionilo/metanol seguido da adição do aminoácido $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina, originando o composto **1** com excelente rendimento (98%). A síntese do éster metílico do aminoácido Aib **1** foi obtida de acordo com o método descrito no ponto 4.2.1 e seguindo o mecanismo descrito no esquema 16.



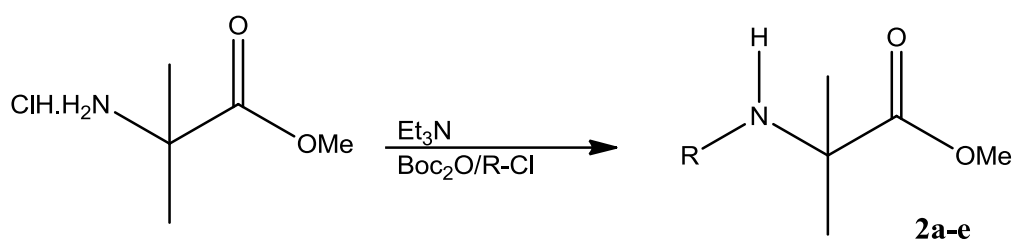
Esquema 16

Por reação do cloreto de tionilo e o aminoácido livre Aib origina-se um intermediário tetraédrico, mas como este é muito instável há um rearranjo da molécula originando o composto **13**. Este por sua vez reage com o metanol originando

um novo intermediário que, por regeneração do carbonilo leva à formação do éster metílico. O método usado revelou-se rápido e eficaz, com rendimento elevado. No espectro de próton do composto **1** é evidente um singlete a 1.75 ppm referente aos grupos metilo do Aib e a 3.84 ppm um singlete que corresponde ao grupo metilo do éster.

2.1.2 Síntese de esteres metílicos de *N*-acil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas

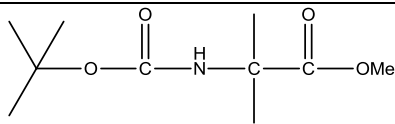
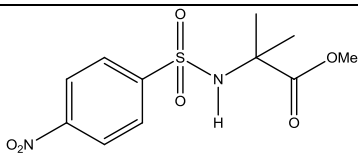
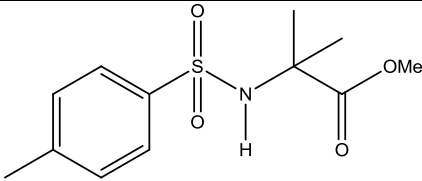
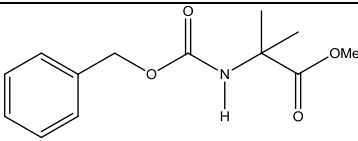
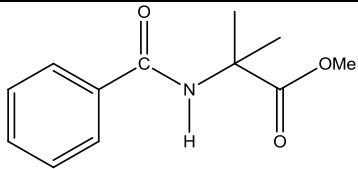
De seguida procedeu-se à proteção do éster metílico da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com vários grupos protetores, nomeadamente, o grupo *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), o grupo benziloxicarbonilo (Z), o grupo 4-nitrobenzenesulfonilo (Nosilo), o grupo 4-toluenesulfonilo (Tos) e o grupo benzoílo (Bz) para formar os compostos **2a-e** (Esquema 17, Tabela 1).



R=Boc, **2a**; R=Nosil, **2b**; R=Tos, **2c**; R=Z, **2d**; R=Bz, **2e**

Esquema 17

Tabela 1: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-acil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas (**2a-e**)

Nº	Estrutura	Rendimento (%)
2a		63
2b		68
2c		75
2d		86
2e		89

Um possível mecanismo para a síntese do composto **2a**, envolve a reação do cloridrato de éster metílico do aminoácido não-proteinogénico Aib com trietilamina levando à neutralização de ácido clorídrico e, ativação do átomo de azoto do aminoácido. Este por sua vez reage com pirocarbonato de *tert*-butilo, ocorrendo o ataque no carbono eletrófilo, originando um intermediário instável que por regeneração do carbonilo leva à libertação de dióxido de carbono e 2-metil-2-propanol como produtos secundários.

Este método revelou-se eficaz, o que se pode confirmar por RMN de próton onde se evidencia um singlete a 1.49 ppm correspondente aos sinais dos grupos metilo do grupo protetor *tert*-butilo do grupo Boc, podendo ainda ser confirmado por

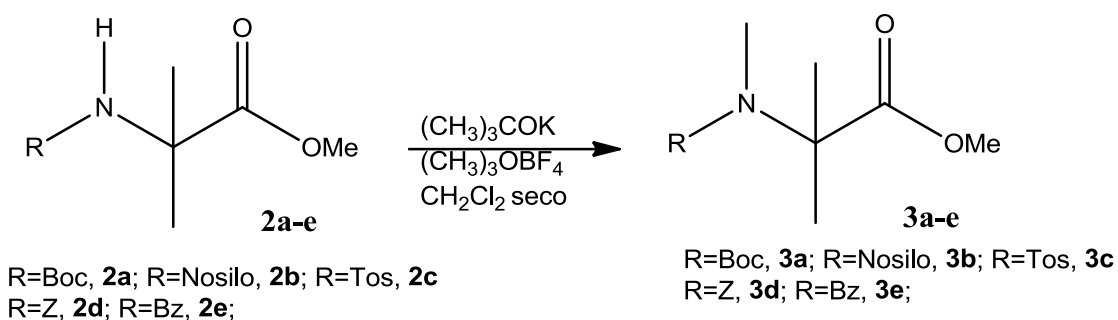
carbono 13 surgindo o pico característico a 28.27 ppm. Para os compostos **2b-e** os espectros de próton e carbono confirmaram a obtenção do produto pretendido com bons rendimentos.

2.1.3 Síntese de ésteres metílicos de *N*-acil, *N*-alquil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas

N-Alquilaminoácidos podem ser utilizados como precursores na síntese de péptidos a fim de alterar a conformação e restringir a flexibilidade, aumentando assim a seletividade para um recetor e melhorar o tempo de ação. Muitos métodos de síntese de *N*-alquilaminoácidos foram desenvolvidos, a maioria deles são *N*-metilações.

Belsito et al.⁷² usando como agente alquilante o tetrafluoroborato de trietiloxónio na presença de *N,N*-diisopropiletilamina preparam diversos derivados *N*-etilados de aminoácidos *N*-protegidos. Monteiro et al.⁸⁵, aplicaram o mesmo método na *N*-alquilação de ésteres metílicos de β,β -dibromo e β -bromo desidroaminoácidos *N*-protegidos. No entanto, verificou que a reação nalguns casos não foi completa. Foi então que estes autores decidiram usar uma base forte de forma a aumentar a acidez do próton do grupo NH, nomeadamente o *tert*-butóxido de potássio. Esta alteração permitiu obter os derivados *N*-etilados com bons rendimentos.

Usando o procedimento desenvolvido por Belsito et al.⁷² e modificado por Monteiro et al., tentou-se a *N*-alquilação dos compostos **2a-e**. Foram usados como agentes alquilantes o tetrafluoroborato de trimetiloxónio e o tetrafluoroborato de trietiloxónio e como base o *tert*-butóxido de potássio. O éster metílico da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina *N*-protegido (**2a-c**) foi dissolvido em diclorometano seguido da adição de 3.5 eq. *tert*-butóxido de potássio e 2.5 eq. de tetrafluoroborato de trimetiloxónio sob atmosfera inerte. Foi obtido o derivado de *N*-acil-*N*-metil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina correspondente (**3a-c**) com bons rendimentos, (Esquema 18, tabela 2).



Esquema 18

Tabela 2: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-acil-*N*-metil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicinas (**3a-e**)

Nº	Estrutura	Rendimento (%)
3a		89
3b		76
3c		75
3d		97
3e		92

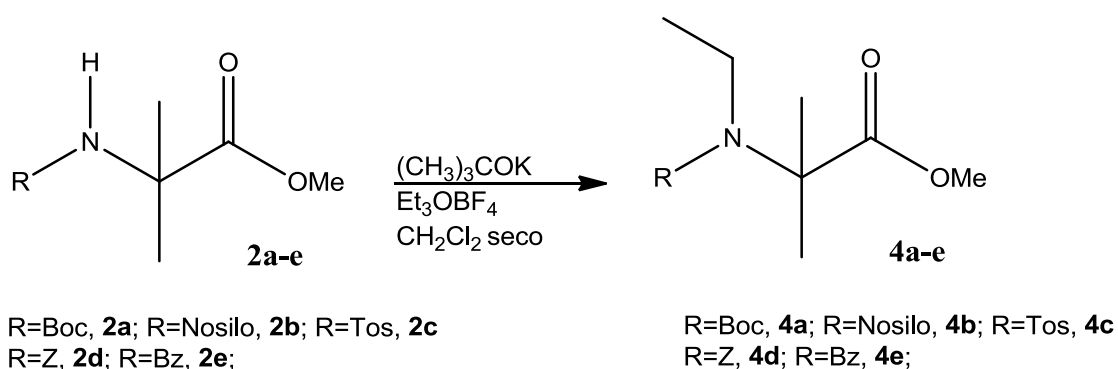
Um possível mecanismo para esta reação envolve a ação da base *tert*-butóxido de potássio que leva à remoção do próton do grupo amina do éster metílico da *N*-acil, $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina criando um excesso de carga negativa nesse mesmo átomo. Como o

composto formado é muito instável este reage com tetrafluoroborato de trimetiloxônio formando o produto desejado.

Este método revelou-se eficaz na síntese de derivados de *N*-metil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina, o que se pôde confirmar por RMN de próton. No caso do composto **3a** pode observar-se um singlete a 2.91 ppm correspondente ao sinal dos prótons NCH_3 e o desaparecimento do sinal do NH. Além da análise por ressonância magnética nuclear a formação do composto **3a** foi confirmada por análise elementar revelando que o produto desejado foi obtido com elevado grau de pureza.

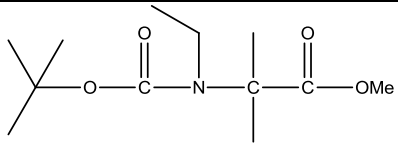
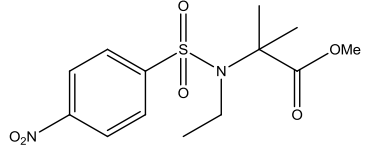
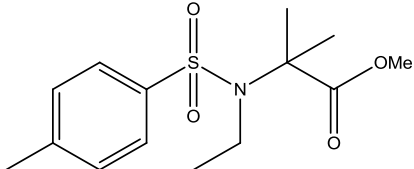
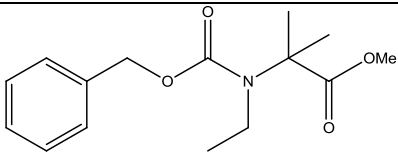
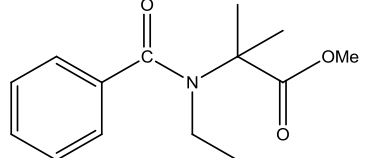
A formação do composto **3b** foi confirmada por RMN de próton, surgindo um singlete a 2.79 ppm correspondente aos prótons do grupo NCH_3 . O mesmo se verificou para os compostos **3c**, **3d** e **3e** surgindo singletos correspondente aos prótons do grupo NCH_3 a 2.71 ppm, 2.98 ppm e 2.97 ppm, respetivamente.

A mesma metodologia foi seguida substituindo o tetrafluoroborato de trimetiloxônio como agente alquilante por tetrafluoroborato de trietiloxônio para dar os correspondentes derivados de $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina *N*-etilados (Esquema 19). O éster metílico de $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina *N*-protegido foi dissolvido em diclorometano seco, seguido da adição de 3.5 eq. *tert*-butóxido de potássio e 2.5 eq. tetrafluoroborato de trietiloxônio sob atmosfera inerte. Foi obtido o derivado *N*-etil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina *N*-protegido correspondente, com bons rendimentos (Esquema 19, Tabela 3).



Esquema 19

Tabela 3: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-acil-*N*-etil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina (**4a-e**)

Nº	Estrutura	Rendimento (%)
4a		83
4b		74
4c		85
4d		78
4e		73

O método revelou-se eficaz obtendo-se os produtos desejados com bons rendimentos. A estrutura do produto foi confirmada por RMN de próton surgindo para o composto **4a** um tripleto a 1.14 ppm com uma constante de acoplamento de 7.2 Hz correspondente aos prótons CH_3 do grupo etilo e um quarteto a 3.36 ppm correspondente aos prótons CH_2 e com a mesma constante de acoplamento.

Para os compostos **4b-e** também se obtiveram os produtos desejados com bons rendimentos, tendo sido confirmadas as respectivas estruturas por RMN de próton (**4b** tripleto a 1.23 ppm e quarteto a 3.32 ppm, **4c** tripleto a 1.14 ppm e quarteto a 3.27

ppm, **4d** tripleto a 1.19 ppm e quarteto a 3.45 ppm e **4e** tripleto a 1.13 ppm e quarteto a 3.39).

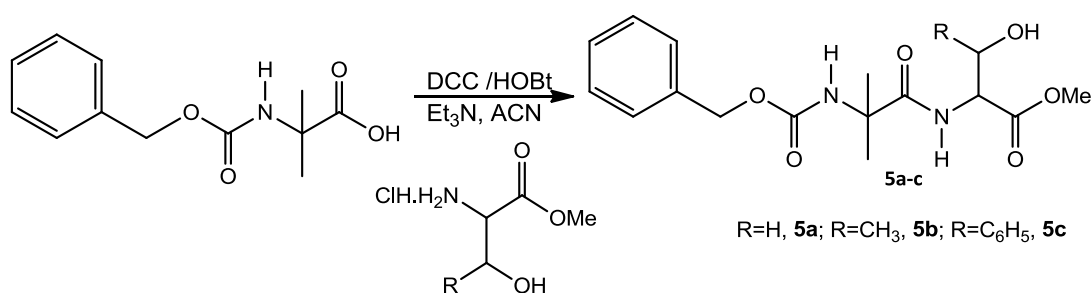
2.2 Síntese de dipéptidos, desidrodipéptidos e dipéptido/desidrodipéptidos *N*-etilados

Tendo sido possível obter derivados de $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina *N*-alquilados, decidiu-se estudar a possibilidade de aplicar o método acima descrito a dipéptidos e desidrodipéptidos contendo como resíduos a $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina, β -hidroxiaminoácidos ou desidroaminoácidos de modo a obter derivados *N*-alquilados.

Inicialmente foram preparados os dipéptidos *N*-protegidos com o grupo benziloxycarbonilo fazendo reagir *N*-benziloxycarbonil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com os esteres metílicos dos β -hidroxiaminoácidos serina, treonina e fenilserina, na presença de DCC e HOBt. Posteriormente, seguiram-se duas vias sintéticas: desidratação seguida de *N*-alquilação; *N*-alquilação seguida de desidratação. Para a desidratação fez-se reagir o dipéptido *N*-protegido com o grupo benziloxycarbonilo com Boc_2O e DMAP seguido da adição de TMG e para a *N*-alquilação utilizou-se tetrafluoroborato de trietiloxónio como agente alquilante e *tert*-butóxido de potássio como base auxiliar.

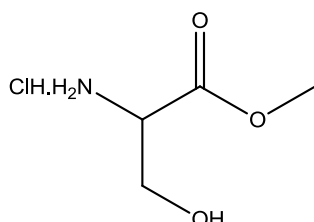
2.2.1 Síntese de esteres metílicos de *N*-benziloxycarbonildipéptidos

Procedeu-se à síntese dos dipéptidos por reação de *N*-benziloxycarbonil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com os esteres metílicos dos β -hidroxiaminoácidos serina, treonina e fenilserina, usando DCC e HOBt em ACN, levando à formação dos dipéptidos **5a-c**.



Esquema 20

Para a formação dos dipéptidos, foi necessário sintetizar o cloridrato do éster metílico da serina. Os esteres metílicos da treonina e fenilserina já haviam sido previamente sintetizados, assim como a *N*-benziloxycarbonil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina. Neste procedimento, o aminoácido serina é adicionado a uma solução de cloreto de tionilo e metanol, dando origem a um sólido branco com excelente rendimento (99%).



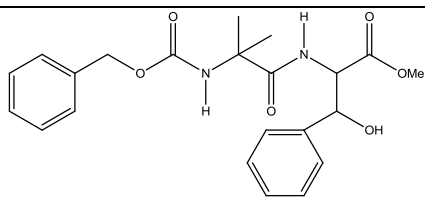
No espectro de próton do éster metílico da serina é evidente a 3.74 ppm a presença de um singlete correspondendo a três prótons referentes ao grupo CH_3 do éster.

Formado o éster metílico da serina, a reação prosseguiu no sentido de formar os compostos **5a-c**. Assim, fez-se reagir Z-Aib-OH em ACN com 1.1 eq. de DCC e 1.0 eq. de HOBT, seguido da adição do cloridrato do éster metílico da serina, treonina ou fenilserina. Após 1h adicionou-se trietilamina originando com bons rendimentos os compostos **5a-c**, respectivamente (Esquema 21, Tabela 4).

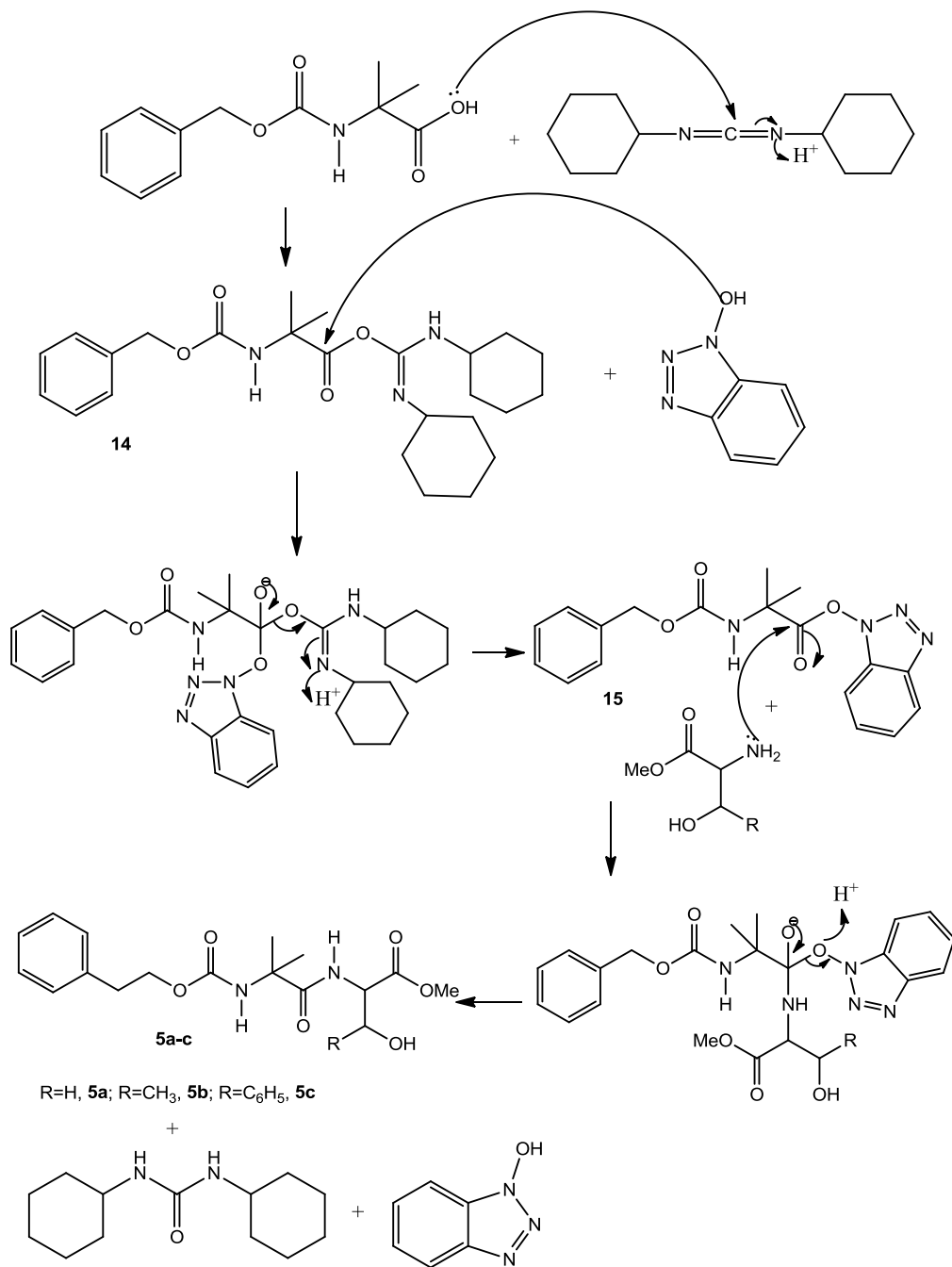
Tabela 4: Rendimentos obtidos na síntese de esteres metílicos de *N*-benziloxycarbonildipéptidos (**5a-c**)

Nº	Estrutura	Rendimento (%)
5a		75
5b		85

5c



85



Em primeiro lugar ocorre o ataque do par de elétrons do grupo hidroxilo do ácido caboxílico do aminoácido *N*-protegido (*Z*-Aib-OH) ao átomo de carbono da *N,N'*-díciclo-hexilcarbodiimida que capta o próton do meio formando o intermediário **14**. Este por sua vez reage com 1-hidroxibenzotriazole (HOBt). O par de elétrons do átomo de oxigênio de HOBt ataca o grupo carboxílico do intermediário acima mencionado havendo um deslocamento de elétrons formando um intermediário instável que se rearranja originando o intermediário **15**. O passo seguinte após a formação do intermediário **15** é a adição do éster metílico do aminoácido serina, treonina ou fenilserina. O par de elétrons do átomo de azoto deste ataca o grupo carboxilo do aminoácido formando um intermediário instável que por rearranjo dos elétrons leva à formação dos dipéptidos **5a-c** com um rendimento de 75%, 85% e 85% respectivamente (Tabela 4). Como produto secundário é formada a 1,3-diciclohexilureia que requer alguns cuidados para a sua remoção, nomeadamente a filtração do solvente da reação, com posterior adição de acetona e colocação do balão no frio de forma a precipitar a restante ureia.

A formação do dipéptido **5a** foi confirmado por RMN de próton no qual são evidentes os sinais do grupo βCH_2 da serina surgindo como um duplo duplete a 3.86 ppm, com constantes de acoplamento de 3.6 Hz e 11.6 Hz, bem como o sinal do próton αCH a 4.58 ppm surgindo como um tripleto com constante de acoplamento de 3.6 Hz. Surgem ainda dois singletos a 1.52 e 1.54 ppm correspondente aos 2 grupos βCH_3 do aminoácido Aib, o sinal dos prótons CH_2 do grupo *Z* como um singlete a 5.08 ppm e ainda um duplete a 7.03 ppm com uma constante de acoplamento de 5.6 Hz correspondente ao NH da ligação peptídica.

Para os compostos **5b** e **5c** também se obteve os produtos desejados com bons rendimentos tendo sido confirmada a estrutura por RMN de próton [**5b** duplete a 1.19 ppm (γCH_3), singlete a 5.10 ppm ($\text{CH}_2\text{-Z}$) e duplete a 6.95 ppm (CO-NH), **5c** duplo duplete a 4.87 ppm (βCH), singlete largo a 5.07 ppm ($\text{CH}_2\text{-Z}$) e duplete a 7.01 ppm (CO-NH)] e por RMN de carbono 13 e espetros bidimensionais.

Uma vez preparados os derivados de dipéptidos, foi seguido um procedimento em duas vias alternativas: desidratação seguida da reação de *N*-alquilação (via A, Esquema 14); *N*-alquilação seguido da desidratação (via B, Esquema 14).

2.2.2 Síntese de ésteres metílicos de *N*-benziloxycarbonildesidrodipéptidos

Formados os compostos **5a-c**, procedeu-se à desidratação do β -hidroxiaminoácido seguindo o procedimento descrito na literatura⁵⁵ e de acordo com o esquema 13, via de síntese A. Inicialmente, fez-se reagir os compostos **5a-c** com 1,0 eq. de pirocarbonato de *tert*-butilo usando DMAP como catalisador, seguido de tratamento com *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina (TMG) (Esquema 22) originando o derivado de desidrodipéptido correspondente (compostos **6a-c**, Tabela 5).

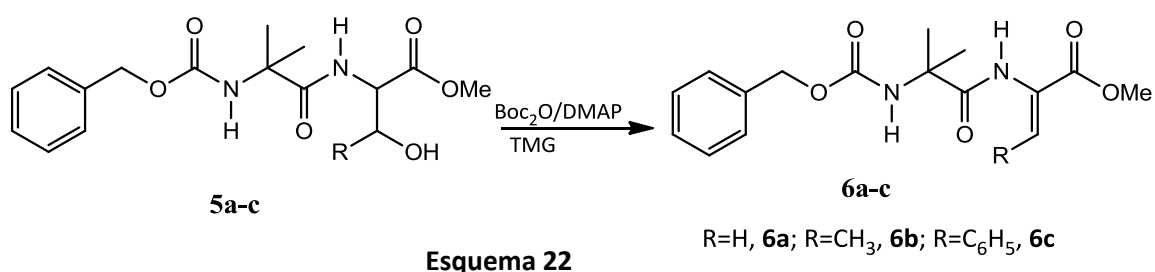


Tabela 5: Resultados obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-benziloxycarbonildesidrodipéptidos (**6a-c**)

Nº	Estrutura	Rendimento (%)
6a		46
6b		62
6c		77

O método usado para a desidratação dos dipéptido revelou-se um método eficaz uma vez que levou à obtenção dos compostos pretendidos com bons rendimentos.

A estrutura dos compostos foi confirmada por ressonância magnética nuclear de protão, carbono e espectros bidimensionais. A análise do espectro de protão do desidrodipéptido **6a** permitiu a visualização dos sinais referentes aos protões do grupo βCH_2 da desidroalanina. Este dá origem a dois sinais distintos, uma vez que os protões não são quimicamente equivalentes, apresentando um singleto a 5.90 ppm e outro a 6.60 ppm. Por outro lado, o desaparecimento do sinal do protão αCH da serina confirma a formação do desidrodipéptido.

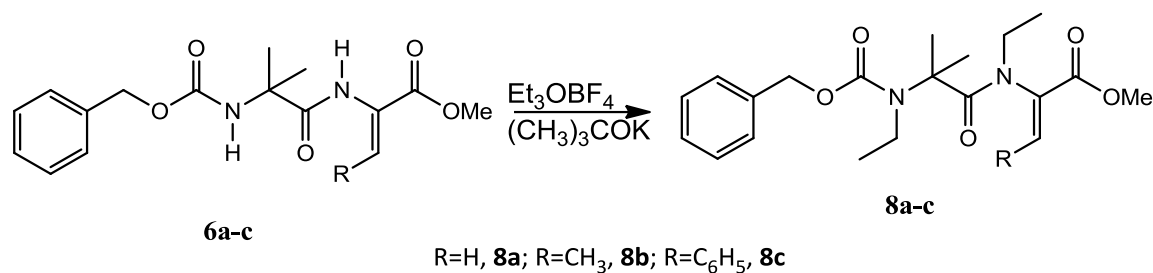
Os desidrodipéptidos **6b** e **6c** também foram obtidos com sucesso tendo sido confirmado por RMN de protão (**6b**: quarteto a 6.81 ppm e um duplete a 1.75 ppm e **6c**: singleto a 7.52 ppm).

A síntese de desidroaminoácidos através de procedimentos por β -eliminação tem sido a aproximação mais viável, levando a bons rendimentos. É de observar que a utilização de serina e treonina como reagentes de partida resultou em rendimentos um pouco inferiores em relação à fenilserina.

Seguindo a via de síntese A, após a desidratação tentou-se a *N*-etilação dos compostos.

2.2.3 Tentativa de síntese de esteres metílicos de *N*-etil-*N*-benziloxicarbonildesidrodipéptidos

Os compostos **6a-c** foram sujeitos a *N*-etilação usando tetrafluoroborato de trietiloxónio como agente alquilante e *tert*-butóxido de potássio como base auxiliar com o objetivo de originar derivados *N*-etilados (compostos **8a-c**, Esquema 23).



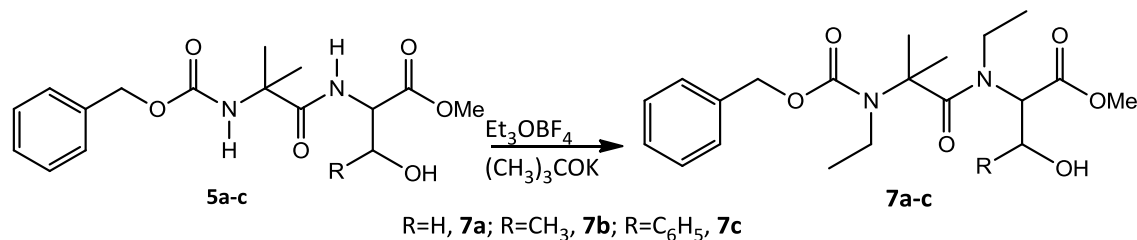
Esquema 23

Contudo, após a reação e o respetivo tratamento observou-se a formação de numa mistura complexa. Foi tentada a sua purificação por cromatografia em coluna usando como eluente a mistura acetato de etilo-éter de petróleo (1:1) mas não foi possível a separação dos componentes da mistura. Pensa-se que esta mistura seja resultado da mono e di-etilação do desidrodipéptido.

Numa tentativa de contornar as dificuldades encontradas, decidiu-se testar a via de síntese B (Esquema 14). Assim, a ordem da reação foi invertida, iniciando-se a *N*-etilação do dipéptido seguido da sua desidratação.

2.2.4 Tentativa de síntese de esteres metílicos de *N*-etil-*N*-benziloxycarbonildipéptidos e de *N*-etil-*N*-benziloxycarbonildesidrodipéptidos

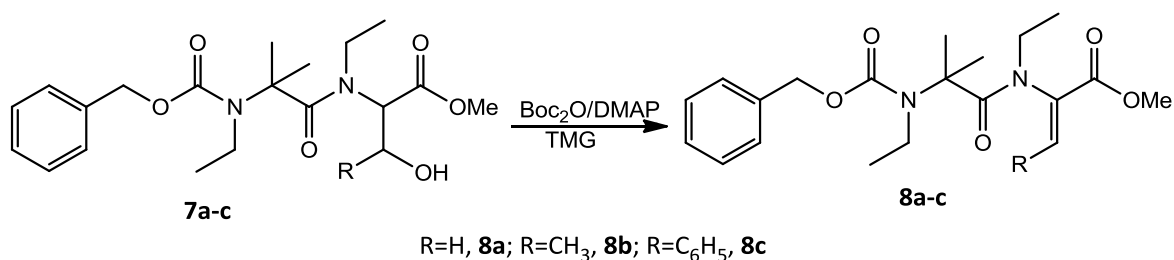
Para a reação de *N*-alquilação, fez-se reagir os compostos **5a-c** com tetrafluoroborato de trietiloxónio usando *tert*-butóxido de potássio como base auxiliar com o objetivo de originar derivados *N*-etilados (compostos **7a-c**, Esquema 24).



Esquema 24

Ao dipéptido **5a-c** em diclorometano seco adicionou-se 3.5 eq. de *tert*-butóxido de potássio e 4.0 eq. de tetrafluoroborato de trietiloxónio. Contudo, a situação que se

verificava na *N*-alquilação do desidrodipéptidos na anterior via de síntese persistiu. Novamente, tentou-se a purificação por cromatografia em coluna usando o mesmo eluente, mas no final continuou-se a obter uma mistura complexa. Ainda foi tentada a desidratação dos compostos **7a-c** usando 1 eq. de pirocarbonato de *terc*-butilo na presença de 4-dimetilaminopiridina e, posteriormente, tratamento com *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina (Esquema 25) para dar origem aos compostos **8a-c**, mas não foi possível isolar qualquer produto que correspondesse aos produtos pretendidos.



Esquema 25

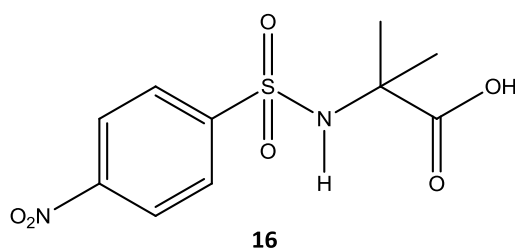
Assim, pode concluir-se que a via de síntese B não era alternativa à via de síntese A, uma vez que ambas resultam na formação de misturas complexas que não permitiram o isolamento do produto pretendido.

Com base nos trabalhos desenvolvidos por Fukuyama⁷³ em que foi proposto o uso do grupo protetor 4-nitrobenzenesulfonilo (Nosilo) que tem um forte efeito eletro-retirador, decidimos adotar esse método e substituir benziloxycarbonilo por Nosilo. Este grupo, para além de atuar como grupo protetor, atua também como agente ativante, aumentando a acidez do hidrogénio da sulfonamida, permitindo uma rápida desprotonação sob condições básicas suaves e fazendo assim aumentar a reatividade em relação a diversos agentes alquilantes.⁷⁴⁻⁷⁶

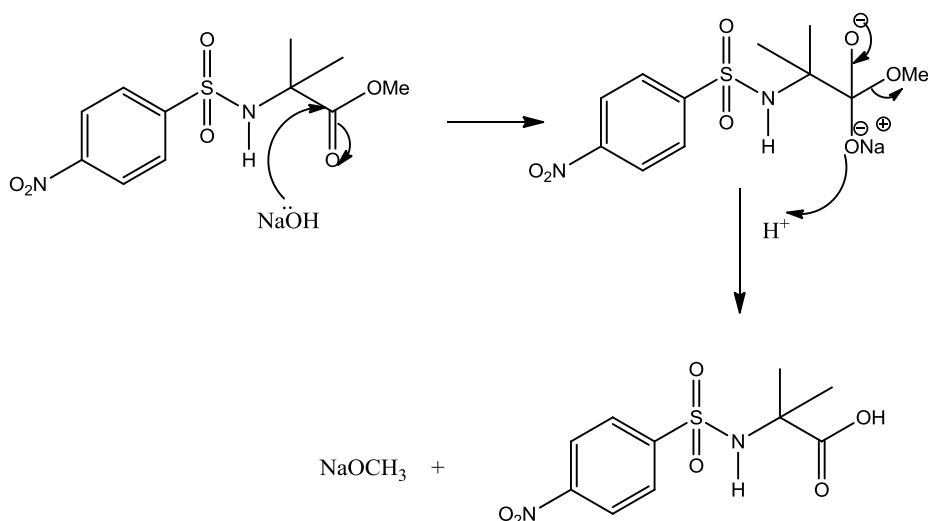
Foi então decidido usar o método inicialmente descrito por Belsito et al., substituindo o grupo benziloxycarbonilo pelo grupo 4-nitrobenzenesulfonilo como grupo protetor o que permitia o uso da base mais fraca, a DIPEA.

2.2.5 Desproteção do éster metílico de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina

O primeiro passo consistiu na síntese dos dipéptidos por reação de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com os esteres metílicos dos β -hidroxiaminoácidos serina, treonina e fenilserina. Para tal houve necessidade de sintetizar Nosil-Aib-OH. Assim, sintetizou-se Nosil-Aib-OMe de acordo com o método descrito no ponto 4.3.5 seguido da desproteção do ácido carboxílico usando uma solução de hidróxido de sódio e dioxano.



O composto Nosil-Aib-OMe foi dissolvido em dioxano, seguido da adição de uma solução de hidróxido de sódio. Terminada a reação o pH da solução foi ajustado entre 2-3 com KHSO_4 precipitando o Nosil-Aib-OH. No esquema 26 está descrito a via sintética para a obtenção do composto **16** com um rendimento de 99.8%.



Esquema 26

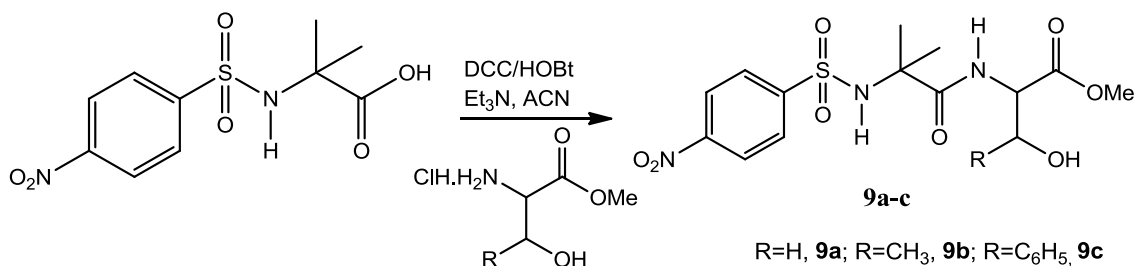
Inicialmente, ocorre o ataque do par de eletrões do átomo de oxigénio do hidróxido ao carbono do carbonilo do aminoácido Nosil-Aib-OMe levando à formação de um intermediário instável. Por regeneração do grupo carbonilo e, ao mesmo tempo

captação de um próton do meio, ocorre a formação do composto **16**. A formação do produto foi comprovada por RMN de próton uma vez que não se observa o sinal dos prótons do grupo CH₃ do éster.

Sintetizado um dos precursores para a síntese dos dipéptidos *N*-protegidos com 4-nitrobenzenesulfonilo procedeu-se à síntese dos dipéptidos *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)-Aib-Ser-OMe **9a**, *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)-Aib-Thr-OMe **9b** e *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)-Aib-Phe(βOH)-OMe **9c**.

2.2.6 Síntese de esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)dipéptidos

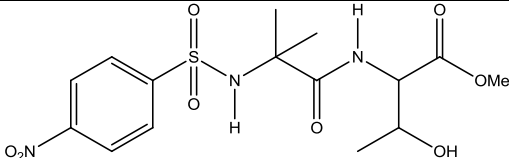
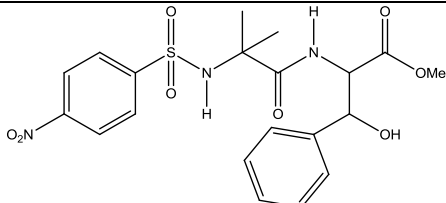
De acordo com o método experimental já descrito na síntese de dipéptidos protegidos com o grupo benziloxicarbonilo foram usadas as mesmas condições reacionais, resultando na formação dos dipéptidos **9a-c** com excelentes rendimentos (Esquema 27, tabela 6).



Esquema 27

Tabela 6: Rendimentos obtidos na síntese de esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)dipéptidos (**9a-c**)

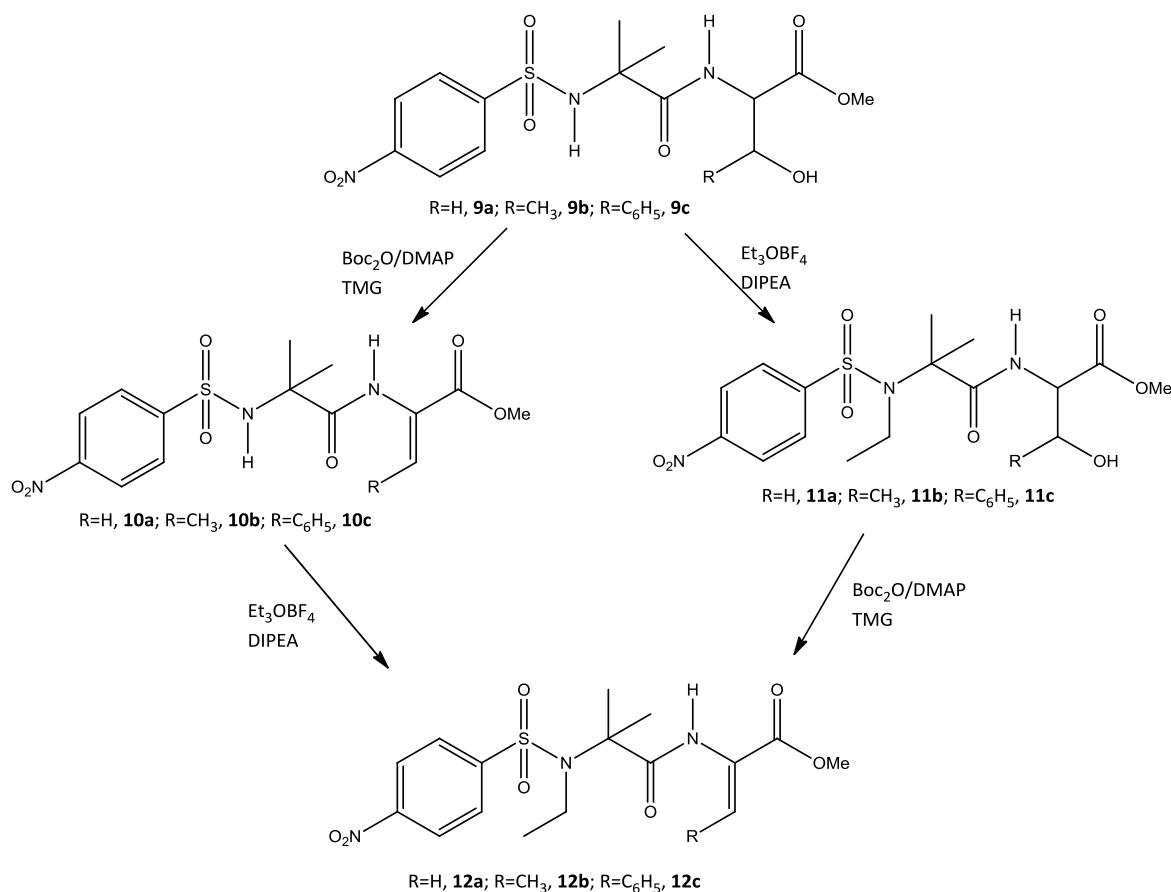
Nº	Estrutura	Rendimento (%)
9a		93

9b		95
9c		95

A formação do composto **9a** foi confirmada por RMN de próton onde são evidentes os sinais do grupo βCH_2 da serina, surgindo como um duplete a 3.72 ppm e com uma constante de acoplamento do 4.4 Hz, um quarteto a 4.19 ppm com uma constante de acoplamento de 8.0 Hz correspondendo ao αCH da serina, dois singletos correspondentes aos prótons $\beta(\text{CH}_3)_2$ do Aib e um duplete a 7.64 ppm correspondente ao NH da ligação peptídica.

O mesmo se verificou para a síntese do dipéptido **9b** e **9c** tendo sido confirmado por RMN de próton onde se visualiza para o composto **9b** um duplete a 1.27 ppm (γCH_3), um duplo duplete a 4.55 ppm (αCH) e um duplete a 7.08 ppm (NH). Para o composto **9c** é visível um duplo duplete a 4.78 ppm (βCH), um duplete a 5.36 ppm (αCH) e um duplete a 6.89 ppm (NH).

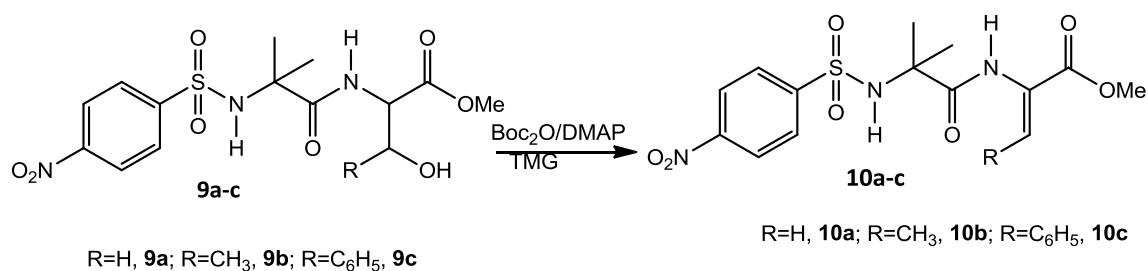
Sintetizados os dipéptidos foi seguida a mesma metodologia usada na síntese dos dipéptidos *N*-protegidos com benziloxycarbonilo, nomeadamente as duas vias sintéticas descritas no esquema 28.



Esquema 28

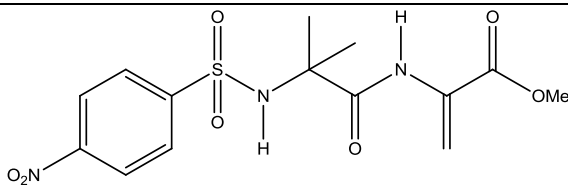
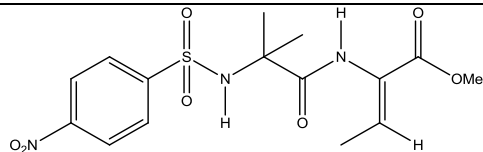
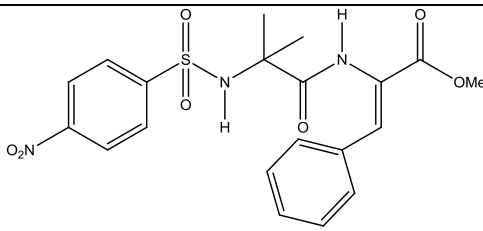
2.2.7 Síntese de ésteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)desidrodipéptidos

O mesmo procedimento anteriormente aplicado na síntese de *N*-Z-desidrodipéptidos foi aplicado, nomeadamente o uso de 1 eq. de pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de 4-dimetilaminopiridina. Posteriormente por tratamento com *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina foi obtido o derivado de desidrodipéptido correspondente com bons rendimentos (compostos **10a-c**, Esquema 29, tabela 7).



Esquema 29

Tabela 7: Rendimentos obtidos na síntese de derivados de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos (**10a-c**)

Nº	Estrutura	Rendimento (%)
10a		94
10b		94
10c		64

O método usado para a desidratação dos dipéptidos revelou-se eficaz, uma vez que levou à obtenção dos compostos pretendidos com bons rendimentos. A estrutura destes produtos foi confirmada por ressonância magnética nuclear de protão e de carbono e por espectros bidimensionais. A análise do espectro de protão do desidrodipéptido **10a** permitiu a visualização dos sinais referentes aos prótons βCH_2 um singlete a 5.92 ppm e outro a 6.53 ppm. Por outro lado, o desaparecimento do sinal do protão αCH confirma a formação do desidrodipéptido.

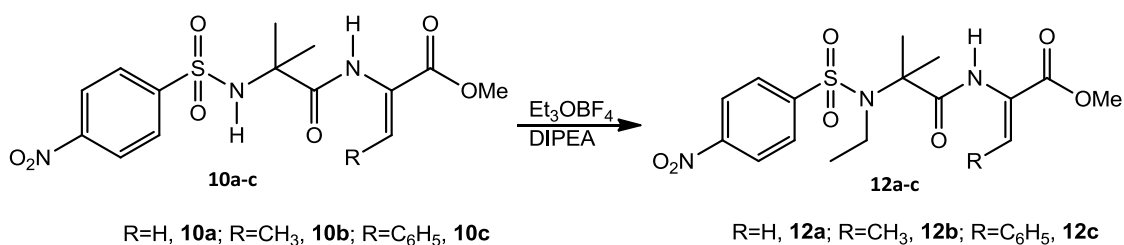
O desidrodipéptido **10b** e **10c** também foram obtidos com sucesso tendo sido confirmado por RMN de protão [**10b** um quarteto a 6.87 ppm (βCH) e um duplete a 1.78 ppm (γCH_3) e **10c** um multiplete a 7.50-7.53 ppm e desaparecimento do sinal do αCH em ambos) e comprovado por RMN de ^{13}C e espectros bidimensionais.

Seguindo a via de síntese A, o passo posterior à desidratação foi a *N*-etilação usando o mesmo agente alquilante referido anteriormente, tetrafluoroborato de

trietiloxônio e substituindo a base auxiliar *terc*-butóxido de potássio por *N,N*-diisopropiletilamina.

2.2.8 Síntese de esteres metílicos de *N*-etil, *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos

Fez-se reagir os compostos **10a-c** com 2.5 eq. de tetrafluoroborato de trietiloxônio e 3.5 eq. de DIPEA sob atmosfera inerte com o objetivo de obter os compostos **12a-c** (Esquema 30, Tabela 8).

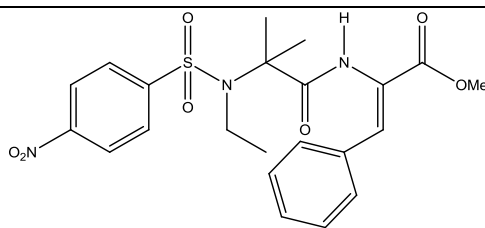


Esquema 30

Tabela 8: Rendimentos obtidos na síntese de esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)-*N*-etildesidrodipéptidos (**12a-c**)

Nº	Estrutura	η (%)
12a		91
12b		69

12c



86

Este método de síntese revelou-se eficaz, levando a formação dos compostos pretendidos com bons rendimentos.

Todos estes compostos foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas habituais o que nos permitiu a atribuição dos sinais característicos de cada composto, nomeadamente, os picos característicos do grupo etilo e do β CH do desidroaminoácido. Assim, para o composto **12a** o sinal dos prótons CH_2CH_3 surge um tripleto a 1,21 ppm com uma constante de acoplamento de 7.2 Hz. Também foi possível identificar os prótons dos esteres metílicos como um singleto a 3,87, 3.89 ppm, um multiplete a 5.88-5.94 relativo a um próton βCH_2 (δ 5.93 ppm), um singleto relativo ao outro próton βCH_2 (δ 6.53 ppm) e o singleto relativo ao NH da ligação peptídica (δ 6,63 ppm).

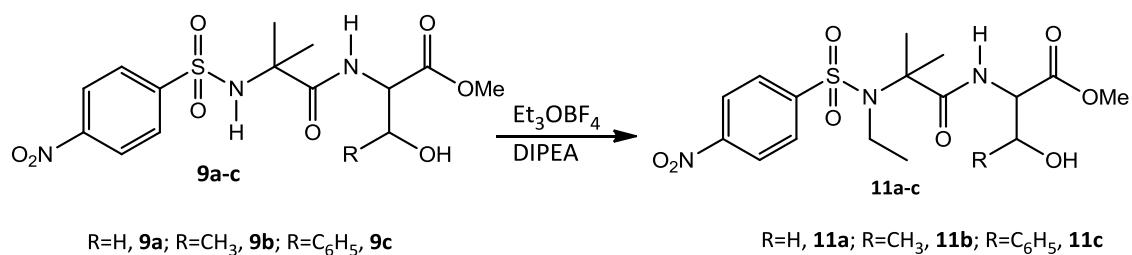
O mesmo se verificou para o composto **12b** onde os espectros de RMN de ^1H mostraram os sinais esperados para os prótons do grupo etilo (a 1,31 ppm e a 3.63 ppm). Também foi possível identificar os prótons do éster metílico como um singleto a δ 3,65 ppm e o singleto relativo ao NH da ligação peptídica a 7.77 ppm.

Para o composto **12c**, os espectros de RMN de ^1H mostraram os sinais esperados para os prótons do grupo etilo (1,28 ppm e 3.65 ppm). Também foi possível identificar os prótons do éster metílico como um singleto a 3,79 ppm e o singleto relativo ao NH da ligação peptídica a 6.96 ppm.

Seguindo a mesma metodologia usada anteriormente, tentou-se sintetizar o mesmo composto final seguindo a via de síntese B em que se iniciava pela *N*-etilação seguido da sua desidratação.

2.2.9 Síntese de ésteres metílicos de *N*-etil-*N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)dipéptidos

Fez-se reagir os compostos **9a-c** com tetrafluoroborato de trietiloxônio usando DIPEA como base auxiliar originando os compostos **11a-c** com excelentes rendimentos (Esquema 31, tabela 9).



Esquema 31

Tabela 9: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)-*N*-etildipéptidos (**11a-c**)

Nº	Estrutura	Rendimento (%)
11a		95
11b		94
11c		93

A formação dos compostos **11a-c** foi comprovada por RMN de próton e carbono 13. No espectro de próton do composto **11a** são visíveis os sinais relativos aos

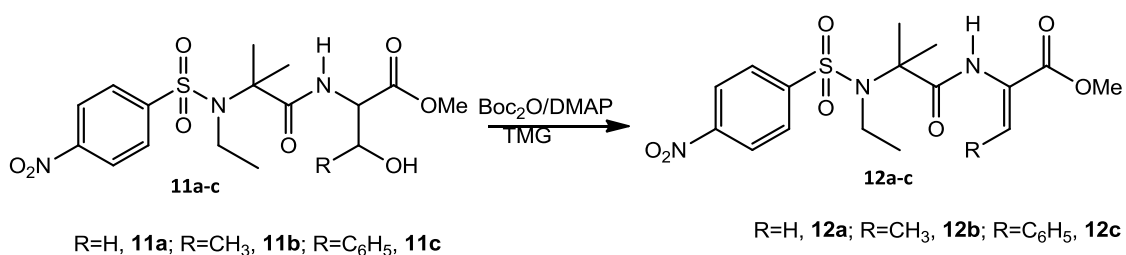
protões NCH_2CH_3 [1.31 ppm (CH_3) e 3.36 ppm (CH_2)]. No espectro de carbono 13 surgem sinais a 16.42ppm (CH_3) e a 40.94 ppm (CH_2).

O mesmo se verifica para os compostos **11b** e **11c** onde se visualiza no espectro de protão do composto **11b** um triplete a 1.26 ppm (NCH_2CH_3) e um quarteto a 3.40 ppm (NCH_2CH_3) e no espectro de protão do composto **11c** um multiplete a 1.19-1.24 ppm (NCH_2CH_3) e um quarteto a 3.21 ppm (NCH_2CH_3).

Obtidos os derivados de *N*-etil-*N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)dipéptidos, prosseguiu-se reação no sentido de formar os esteres metílicos de *N*-etil-*N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos.

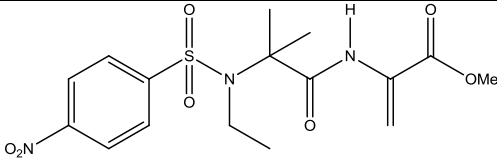
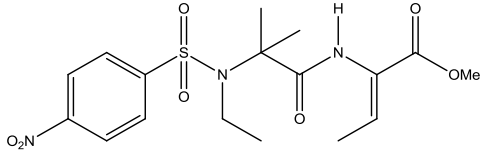
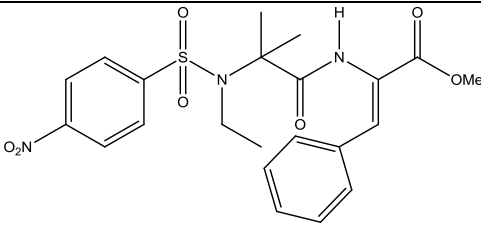
2.2.10 Síntese de esteres metílicos de *N*-etil-*N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos

Fez-se reagir os compostos **11a-c** com pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de DMAP e, com posterior adição de TMG, originando os compostos **12a-c** com bons rendimentos (Esquema 32, tabela 10).



Esquema 32

Tabela 10: Rendimentos obtidos na síntese de esteres metílicos de *N*-etil-*N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos (**12a-c**)

Nº	Estrutura	η (%)	
		Via A	Via B
12a		91	88
12b		69	61
12c		86	88

Comparando os valores dos rendimentos obtidos para o mesmo composto seguindo as duas vias distintas, verificamos que para o *N*-Nosil-*N*-etil-desidrodipéptido contendo resíduos de serina e treonina a via de síntese A é mais favorável pois na reação de desidratação como resultado final é obtido um sólido amarelo e um sólido branco, respetivamente, não havendo necessidade de recristalização. Para o dipéptido contendo o resíduo de fenilserina, obteve-se um óleo castanho, o qual se tentou recristalizar de acetato de etilo-éter de petróleo levando a perdas de massa o que poderá justificar um rendimento mais baixo (Tabela 10).

Seguindo a via de síntese B, o passo inicial leva à formação dos compostos *N*-etilados na forma de um óleo castanho, que se tentou cristalizar usando o mesmo eluente acima mencionado o que poderia levar a perdas de composto para, posteriormente prosseguir a reação de desidratação. Assim, podemos concluir que a ordem de reação mais viável e mais satisfatória para a obtenção de compostos do tipo **12a-c** é iniciar com a desidratação e, posteriormente a *N*-alquilação.

A modificação do grupo *N*-protetor permitiu o uso de uma base fraca no processo de *N*-etilação e revelou-se uma alternativa viável levando à formação dos compostos desejados quer na alquilação dos derivados dos dipéptidos quer dos desidrodipéptidos. A *N*-alquilação ocorre apenas no átomo de azoto ligado ao grupo Nosilo, não havendo formação de misturas complexas.

Sintetizados os compostos, simultaneamente, *N*-etilados e desidratados podemos concluir que este método é uma via interessante para a síntese de compostos *N*-alquilados pois ocorre numa só posição da molécula o que permite a obtenção de compostos mais limpos e com melhores rendimentos, atingindo assim o objetivo inicial de sintetizar novos dipéptido não-naturais que incorporam, simultaneamente, as características de *N*-alquilaminoácidos, desidroaminoácidos e $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas. Estes poderão ser aplicados na síntese de péptidos com possível ação farmacológica.

Capítulo 3

Conclusões

Neste trabalho foram sintetizados novos aminoácidos não naturais, por *N*-alquilação de derivados da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina e dipéptidos contendo $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina e outro aminoácido não-natural, nomeadamente, desidroaminoácidos.

De modo a obter $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas *N*-alquiladas, o éster metílico do aminoácido não-natural dimetilglicina (Aib), foi protegido com diferentes grupos protetores obtendo-se $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicina *N*-protegida com bons rendimentos (63-86%). Seguidamente procedeu-se à sua *N*-metilação e *N*-etilação resultando na formação dos derivados *N*-alquilados da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com bons rendimentos (75 – 97% para as *N*-metil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas e 74 – 85% para as *N*-etil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas).

Face aos resultados obtidos foi proposto a aplicação da metodologia desenvolvida para a *N*-alquilação de dipéptidos contendo resíduos de $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina e diversos α,β -desidroaminoácidos, nomeadamente, a desidroalanina, o ácido desidroaminobutírico e a desidrofenilalanina. Assim, sintetizaram-se dipéptidos contendo um resíduo de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicina protegido com o grupo *N*-benziloxycarbonilo e um β -hidroxiaminoácido (serina, treonina e β -hidroxifenilalanina) com bons rendimentos (75-85%). Seguidamente, testou-se a possibilidade de obter *N*-etil-desidro-dipéptidos, a partir destes dipéptidos usando duas vias sintéticas alternativas: desidratação (*tert*-butilpirocarbonato e *N,N*-dimetilaminopiridina) seguida de *N*-etilação (tetrafluoroborato de trietiloxónio e *tert*-butóxido de potássio) ou: *N*-alquilação seguido de desidratação. No entanto, a tentativa de obtenção de *N*-benziloxycarbonilo-*N*-etil-desidroaminoácidos seguindo ambas as vias sintéticas, resultou na formação de uma mistura complexa a qual se pensa consistir na mistura de dipéptidos mono e di-etilados. Como não foi possível a obtenção dos compostos desejados, houve a necessidade de procurar outra alternativa e tendo em conta os estudos de Belsito et al. foi decidido substituir o grupo protetor benziloxycarbonilo pelo grupo protetor 4-nitrobenzenosulfonilo. O uso deste grupo protetor que tem um efeito eletroretirador muito forte permite o uso de uma base auxiliar mais fraca, podendo substituir-se a base forte *tert*-butóxido de potássio pela base mais fraca *N,N*-diisopropiletilamina.

Sintetizaram-se então, dipéptidos contendo um resíduo de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicina protegida com o grupo *N*-(4-nitrobenzenesulfonilo) e um β -hidroxiaminoácido (serina, treonina e β -hidroxifenilalanina). A mesma metodologia aplicada aos dipéptidos anteriores seguindo duas vias sintéticas foi usada, resultando na formação *N*-etildesidrodipéptidos com bons rendimentos (61-91%).

Apesar de ambas as vias sintéticas resultarem na formação dos compostos pretendidos, a via preferencial seria a que se iniciava pela desidratação seguido de *N*-alquilação, uma vez que na via sintética que se iniciava pela *N*-alquilação requeria, em alguns casos, a purificação por cromatografia em coluna levando a perdas de rendimento. Assim, podemos concluir que o uso do grupo protetor fortemente eletroretirador é uma ótima alternativa, pois para além de permitir o uso de uma base mais fraca leva à formação apenas do produto mono-etilado.

Assim, este método consistiu um procedimento geral e eficaz para a síntese dipéptidos contendo aminoácidos não-naturais com as características de *N*-alquilaminoácidos, de desidroaminoácidos e de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas que poderão ter eventual aplicação na síntese de péptidos com possível ação farmacológica.

No sentido de dar seguimento ao trabalho desenvolvido, uma das alternativas seria inverter a ordem de combinação dos aminoácidos. Assim, sintetizaríamos Nosil-Ser-OH fazendo reagir com o cloridrato do éster metílico do aminoácido Aib, podendo ainda ser usados outros aminoácidos como treonina e fenilserina. Seguidamente, os dipéptidos seriam sujeitos a desidratação e/ou *N*-alquilação de forma a testar a eficiência da reação.

Outra alternativa seria a dupla proteção do átomo de azoto usando um excesso de Boc_2O . O aminoácido teria de ser protegido anteriormente ao acoplamento para formação do dipéptido permitindo assim a *N*-alquilação num só átomo de azoto.

Capítulo 4

Parte

Experimental

4.1 Técnicas Gerais

- Evaporações

As evaporações efetuaram-se em dois evaporadores rotativos, Büchi 461 e B – 480, sob pressão reduzida (trompa de água).

- Revelação das placas de TLC

As placas de TLC foram reveladas numa câmara CN – 6 de luz ultra-violeta ($\lambda_{\text{máx}}=254\text{nm}$) e numa câmara de iodo.

- Pontos de fusão

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho Stuart SMP3 e não foram corrigidos.

- Espectrometria de RMN

Os espectros de ^1H -RMN foram obtidos a 300MHz num espectrómetro Varian Unity Plus ou a 400MHz num Bruker Avance III+ 400, usando os sinais dos solventes residuais (CHCl_3 do CDCl_3 ou DMSO do $\text{DMSO} - d_6$) como referências internas. Os espectros de ^{13}C -RMN foram obtidos a 75,4MHz (espectrómetro Varian) ou a 100,62 MHz (espectrómetro Bruker). A atribuição dos sinais foi confirmada pelas técnicas de HMQC e HMBC e/ou por analogia com compostos do mesmo tipo e previsão de desvios químicos.

- Análise elementar

A composição elementar dos compostos foi determinada num analisador LECO CHNS 932.

- Cromatografia em coluna tipo “flash”

Nesta técnica utilizou-se sílica gel com tamanho de partícula 230-400 mesh (Macherey-Nagel Ref^a 815381).

- Solventes

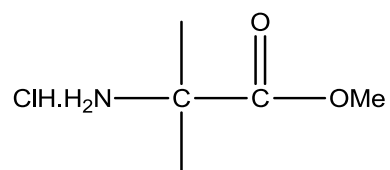
A maior parte dos solventes utilizados apresentava grau de pureza p.a., por isso foram utilizados sem purificação prévia com exceção do diclorometano e do acetonitrilo que foram secos e destilados usando cloreto de cálcio e hidreto de sódio (acetonitrilo) e sílica e hidreto de cálcio (diclorometano) e colocados em frascos com agentes secantes.

- Reagentes

Os compostos de partida foram adquiridos no mercado e foram usados sem purificação prévia.

4.2. Síntese de ésteres metílicos de *N*-acil, *N*-alquil-*C*^{α,α}-dimetilglicina

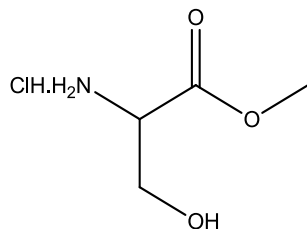
4.2.1 Síntese do éster metílico da *C*^{α,α}-dimetilglicina 1



Adicionou-se cloreto de tionilo (12.5mL, 50mmol), gota-a-gota, a metanol (50mL) num banho de gelo e sal durante 20-30 minutos. Seguidamente adicionou-se Aib (5.155g, 50mmol) e deixou-se agitar num banho a 40°C durante 4h. Terminada a reação, evaporou-se o solvente e o sólido obtido foi triturado com a ajuda de uma espátula e éter dietílico obtendo-se um sólido branco com um rendimento de 98%.

^1H RMN (300MHz, CDCl_3) δ : 1.75 [s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$], 3.84 (s, 3H, OCH_3), 8.96 (s, 1H, NH) ppm.

4.2.2 Síntese do éster metílico da serina

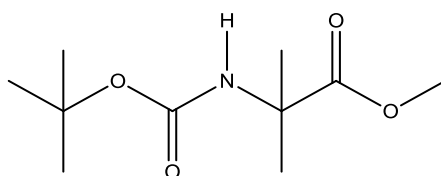


Adicionou-se cloreto de tionilo (12.5 mL, 50 mmol), gota-a-gota, a metanol (50mL) num banho de gelo e sal durante 20-30 minutos. Seguidamente adicionou-se serina (5.253 g, 30 mmol) e deixou-se agitar num banho a 40°C durante 4h. Terminada a reação, evaporou-se o solvente e o sólido obtido foi triturado com a ajuda de uma espátula e éter dietílico obtendo-se um sólido branco com um rendimento de 99%.

^1H RMN (400MHz, CDCl_3) δ = 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.84 (d, 2H, $J=3.2\text{Hz}$, βCH_2), 4.13 (t_{ap} , 1H, $J=3.6\text{Hz}$, αCH), 5.57 (s, 1H, NH), 8.42 (s, 1H, OH) ppm.

4.2.3 Síntese de esteres metílicos de *N*-acil- $\text{C}^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina

- Síntese de Boc-Aib-OMe **2a**



A uma solução de HCl-H-Aib-OMe (1.152 g, 7.5 mmol) em CH_2Cl_2 (30 mL) foi adicionado trietilamina (2.3 mL, 1.668 g, 16.5 mmol, 2.2 eq.) e pirocarbonato de *tert*-butilo (1.635 g, 7.5 mmol, 1eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. num banho de gelo durante 24h sendo seguida por TLC [éter dietílico – éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação o diclorometano foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo adicionado a acetato de etilo (150 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi

seca (MgSO_4) e evaporada à secura obtendo-se um sólido branco com um rendimento de 63%.

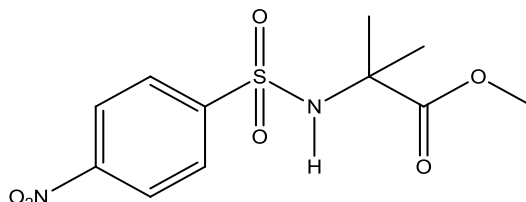
p.f. = 42 – 44 °C

^1H RMN (400MHz, CDCl_3) δ : 1.43 (s, 9H, CH_3 Boc), 1.49 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3.73 (s, 3H, OCH_3), 5.03 (br. s, 1H, NH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 25.36 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28.27 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 52.38 (OCH_3), 56.13 (αC), 79.69 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 154.56 ($\text{C}=\text{O}$), 175.29 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ (217.26): calculado C 55.28, H 8.81, N 6.45; obtido C 55.03, H 8.68, N, 6.68.

- Síntese de Nosyl-Aib-OMe **2b**



A uma solução de HCl-H-Aib-OMe (1.152 g, 7.5 mmol) em CH_2Cl_2 (30 mL) foi adicionado trietilamina (2.3 mL, 1.668 g, 16.5 mmol, 2.2 eq.) e cloreto de 4-nitrobenzenesulfonilo (1.662 g, 7.5 mmol, 1 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. num banho de gelo durante 24h sendo seguida por TLC [(éter dietílico – éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação, o diclorometano foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo adicionado a acetato de etilo (150 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO_4) e evaporada à secura obtendo-se um sólido amarelo com um rendimento de 68%.

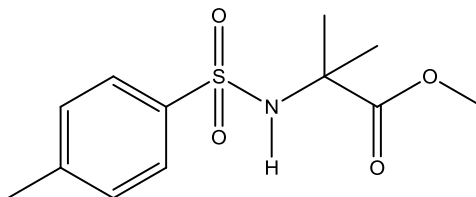
p.f. = 94 – 96 °C

^1H RMN (300MHz, CDCl_3) δ : 1.48 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3.70 (s, 3H, OCH_3), 5.80 (s, 1H, NH), 8.08 (d, 2H, J = 8.8 Hz, ArH), 8.34 (d, 2H, J = 8.8 Hz, ArH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 25.81 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 53.03 (OCH_3), 59.59 (αC), 124.18 (CH), 128.21 (CH), 148.16 (C), 156.15 (C), 174.14 ($\text{C}=\text{O}$) ppm

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (302.30): calculado C, 43.70; H, 4.67; N, 9.27; S, 10.61; obtido C, 43.42; H, 4.89; N, 9.32; S, 10.84.

- Síntese de Tos-Aib-OMe **2c**



A uma solução de HCl-H-Aib-OMe (1.152 g, 7.5 mmol) em CH_2Cl_2 (30 mL) foi adicionado trietilamina (2.3 mL, 1.668 g, 16.5 mmol, 2.2 eq.) e cloreto de *p*-toluenesulfonilo (1.430 g, 7.5 mmol, 1 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. num banho de gelo durante 24h sendo seguida por TLC [éter dietílico – éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reacção, o diclorometano foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo adicionado a acetato de etilo (150 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO_4) e evaporada à securo obtendo-se um sólido branco de massa 1.526 g. Foi recristalizada de éter diétilico – éter de petróleo obtendo-se um sólido branco com um rendimento de 75%.

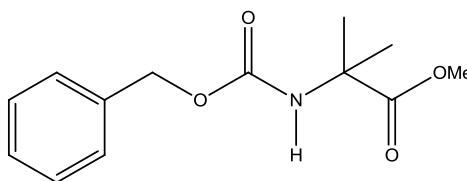
p.f. = 69 - 71 °C

^1H RMN (400MHz, CDCl_3): δ : 1.44 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 2.41 (s, 3H, CH_3 Tos), 3.64 (s, 3H, OCH_3), 5.43 (br. s, 1H, NH), 7.28 (d, 2H, J = 8.4 Hz, ArH), 7.76 (d, 2H, J = 8.4 Hz, ArH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 21.45 (CH_3 Tos), 25.68 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 52.73 (OCH_3), 58.87 (αC), 127.06 (CH), 129.45 (CH), 139.26 (C), 143.21 (C), 174.45 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

C₁₂H₁₇NO₄S (271.33): calculado C 53.12; H, 6.32; N, 5.16; obtido C, 53.34; H, 6.30; N, 5.25.

- Síntese de Z-Aib-OMe **2d**



A uma solução de HCl-H-Aib-OMe (1.185 g, 5 mmol) em CH₂Cl₂ (30mL) foi adicionado trietilamina (1.5 mL, 1.112 g, 11 mmol, 2.2 eq.) e cloroformiato de benzilo (0.7701 g, 5 mmol, 1 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. num banho de gelo durante 24h sendo seguida por TLC [éter dietílico – éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação, o diclorometano foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo adicionado a acetato de etilo (150 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄) e evaporada à secua obtendo-se um sólido branco de massa 1.078 g e com um rendimento de 86%. Foi recristalizada de éter diétilico – éter de petróleo obtendo-se um sólido branco.

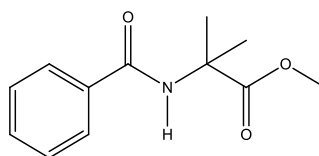
p.f.: 63.0 - 64.0 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.55 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3.73 (s, 3H, OCH₃), 5.09 (s, 2H, CH₂ Z), 5.41 (br. s, 1H, NH), 7.34-7.37 (m, 5H, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ= 25.12 [C(CH₃)₂], 52.61 (OCH₃), 56.46 (αC), 66.51 (CH₂), 128.04 (CH), 128.08 (CH), 128.48 (CH), 136.38 (C), 154.86 (C=O), 175.03 (C=O) ppm.

C₁₃H₁₇NO₄ (251.28): calculado C, 62.14; H, 6.82; N, 5.57; obtido C, 62.30; H, 6.80; N, 5.70.

- Síntese de Bz-Aib-OMe **2e**



A uma solução de HCl-H-Aib-OMe (0.765 g, 5 mmol) em CH₂Cl₂ (30 mL) foi adicionado trietilamina (1.5 mL, 0.111 g, 11 mmol, 2.2 eq.) e cloreto de benzoílo (0.578 g, 5 mmol, 1 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. num banho de gelo durante 24h sendo seguida por TLC [éter dietílico – éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação o diclorometano foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo adicionado a acetato de etilo (150 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄) e evaporada à secura obtendo-se um sólido branco com um rendimento de 89%.

p.f. = 114.0-115.0 °C

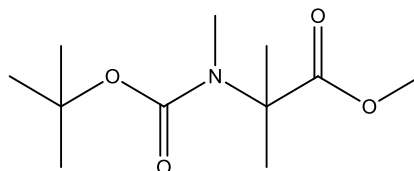
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.70 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3.80 (s, 3H, OCH₃), 6.80 (s, 1H, NH), 7.43-7.46 (m, 3H, ArH), 7.78-7.80 (m, 2H, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 24.72 [C(CH₃)₂], 52.72 (OCH₃), 56.85 (αC), 126.91 (CH), 128.48 (CH), 131.50 (CH), 134.46 (C), 165.54 (C=O), 175.25 (C=O) ppm.

C₁₂H₁₅NO₃ (221.25): calculado C, 65.14; H, 6.83; N, 6.33; obtido C, 65.01; H, 6.67; N, 6.44.

4.2.4 Síntese de ésteres metílicos de *N*-acil, *N*-alquil-*C*^{α,α}-dimetilglicina

- Síntese de Boc-*N*(Me)-Aib-OMe **3a**



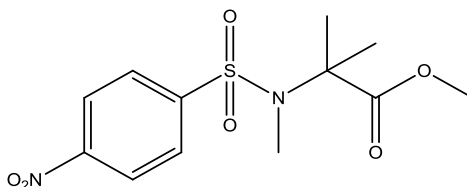
A Boc-Aib-OMe (0.072 g, 0.33 mmol) em CH₂Cl₂ seco (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.129 g, 1.16 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trimetiloxónio (0.107 g, 0.73 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo com um rendimento de 89%.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 15H, CH₃ Boc + C(CH₃)₂), 2.91 (s, 3H, NCH₃), 3.71 (s, 3H, OCH₃) ppm.

¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ = 28.26 [C(CH₃)₃], 29.51 [C(CH₃)₂], 52.03 (OCH₃), 60.33 (αC), 155.21 (C=O), 175.57 (C=O) ppm.

- Síntese de Nosyl-*N*(Me)-Aib-OMe **3b**



A Nosyl-Aib-OMe (0.302 g, 1 mmol) em CH₂Cl₂ seco (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.393 g, 3.5 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trimetiloxônio (0.325 g, 2.2 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um sólido laranja de massa 0.239 g. Foi recristalizada de acetato de etilo – éter de petróleo obtendo-se um sólido laranja com um rendimento de 76%.

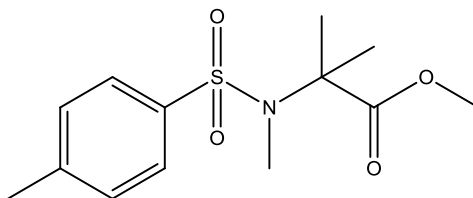
p.f. = 116 - 118 °C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.58 [s, 6H, C(CH₃)₂], 2.79 (s, 3H, NCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 8.17 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, ArH), 8.36 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ = 25.02, [C(CH₃)₂], 31.02 (NCH₃), 52.77 (OCH₃), 63.72 (αC), 124.07 (CH), 129.09 (CH), 146.00 (C), 150.03 (C), 174.48 (C=O) ppm.

C₁₂H₁₆N₂O₆S (316.33): calculado C, 45.56; H, 5.10; N, 8.86; S, 10.14; obtido C, 45.51; H, 5.18; N, 8.89; S, 10.11.

- Síntese de Tos-N(Me)-Aib-OMe **3c**



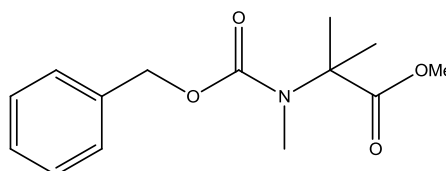
A Tos-Aib-OMe (0.190 g, 0.7 mmol) em CH₂Cl₂ seco (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.275 g, 2.45 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trimetiloxônio (0.228 g, 1.54 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secura obtendo-se um óleo acastanhado com um rendimento de 75%.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.54 [s, 6H, C(CH₃)₂], 2.43 (s, 3H, CH₃ Tos), 2.71 (s, 3H, NCH₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, ArH), 7.84 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, ArH) ppm.

¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ = 21.51 (CH₃ Tos), 24.71 [C(CH₃)₂], 30.67 (NCH₃), 52.55 (OCH₃), 62.86 [C(CH₃)₂], 127.92 (CH), 129.43 (CH), 137.12 (C), 143.45 (C), 174.97 (C=O) ppm.

- Síntese de Z-N(Me)-Aib-OMe **3d**



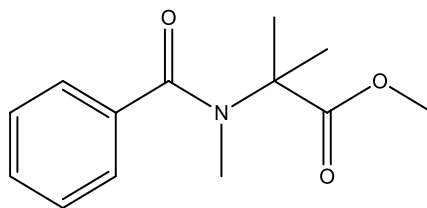
A Z-Aib-OMe (0.176 g, 0.7 mmol) em CH₂Cl₂ seco (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.274 g, 2.45 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trimetiloxônio (0.228 g, 1.54 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo com um rendimento de 97%.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.46 [s, 6H, C(CH₃)₂], 2.98 (s, 3H, NCH₃), 3.66 (br. s, 3H, OCH₃), 5.11 (s, 2H, CH₂ Z), 7.33-7.36 (m, 5H, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 23.79 [C(CH₃)₂], 29.67 (NCH₃), 52.12 (OCH₃), 60.79 [C(CH₃)₂], 67.27 (CH₂), 127.99 (CH), 128.40 (CH), 136.47 (C), 155.90 (C=O), 175.09 (C=O) ppm.

- Síntese de Bz-*N*(Me)-Aib-OMe **3e**



A Bz-Aib-OMe (0.155 g, 0.7 mmol) em CH₂Cl₂ seco (15-20mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.274 g, 2.45 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trimetiloxônio (0.228 g, 1.54 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um sólido amarelo com um rendimento de 92%.

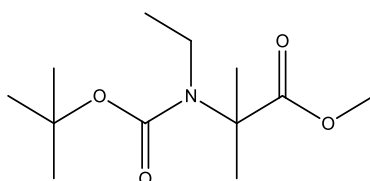
p.f. = 95.0-96.0 °C

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.55 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 2.97 (s, 3H, NCH_3), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 7.41-7.53 (m, 5H, ArH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 22.96 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 33.43 (NCH_3), 52.31 (OCH_3), 60.72 (αC), 127.25 (CH), 128.35 (CH), 129.45 (CH), 136.43 (C), 171.87 ($\text{C}=\text{O}$), 174.60 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ (235.28): calculado C, 66.36; H, 7.28; N, 5.95; obtido C, 65.88; H, 7.24; N, 6.01.

- Síntese de Boc-*N*(Et)-Aib-OMe **4a**



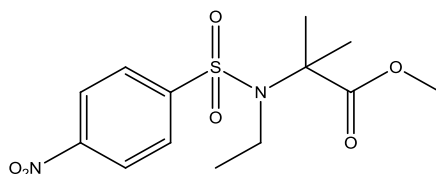
A Boc-Aib-OMe (0.434 g, 2 mmol) em CH_2Cl_2 seco (15-20 mL) adicionou-se *ter*-butóxido de potássio (0.786 g, 7 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.950 g, 5 mmol, 2.5 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo laranja com um rendimento de 93%.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.14 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH_2CH_3), 1.42 (s, 9H, CH_3 Boc), 1.46 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3.36 (q, 2H, J = 7.2 Hz, CH_2CH_3), 3.78 (s, 3H, OCH_3) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 15.74 (CH_2CH_3), 24.94 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28.27 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 37.95 (CH_2CH_3), 52.01 (OCH_3), 60.55 (αC), 80.07 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 154.69 ($\text{C}=\text{O}$), 175.71 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

- Síntese de Nosyl-*N*(Et)-Aib-OMe **4b**



A Nosyl-Aib-OMe (0.604 g, 2 mmol) em CH₂Cl₂ (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.786 g, 7 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trietiloónio (0.836 g, 4.4 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um sólido amarelo de massa 0.488 g. Foi recristalizado de acetato de etilo – éter de petróleo obtendo-se um sólido amarelo com um rendimento de 74%.

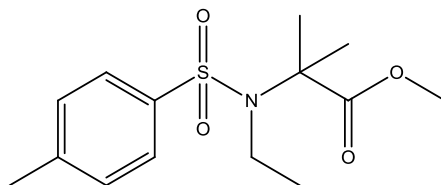
p.f. = 97 – 99 °C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.23 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 1.61, 1.63 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3.32 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 3.72, 3.78 (s, 3H, OCH₃), 8.20 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 8.35 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 16.34 (CH₂CH₃), 25.82, 26.36 [C(CH₃)₂], 40.71 (CH₂CH₃), 52.78, 53.11 (OCH₃), 59.63, 64.46 (αC), 123.98 (CH), 124.21 (CH), 128.24 (CH), 129.18 (CH), 146.97 (C), 149.91 (C), 174.75 (C=O) ppm.

C₁₃H₁₈N₂O₆S (330.36): calculado C, 47.26; H, 5.49; N, 8.48; S, 9.71; obtido C, 46.83; H, 5.62; N, 8.46; S, 9.56.

- Síntese de Tos-*N*(Et)-Aib-OMe **4c**



A Tos-Aib-OMe (0.542 g, 2 mmol) em CH₂Cl₂ (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.786 g, 7 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.380 g, 4.4 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um sólido amarelo de massa 0.512 g. Foi recristalizado de acetato de etilo – éter de petróleo obtendo-se um sólido amarelo com um rendimento de 85%.

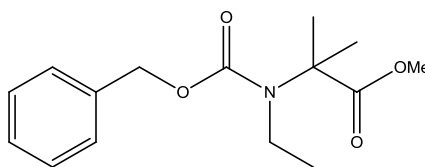
p.f. =. 59.0 - 60.0 °C

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.14 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 1.61 [s, 6H, C(CH₃)₂], 2.42 (s, 3H, CH₃ Tos), 3.27 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 7.29 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, ArH), 7.85 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 16.25 (CH₂CH₃), 21.47 (CH₃ Tos), 26.09 [C(CH₃)₂], 40.09 (CH₂CH₃), 52.51 (OCH₃), 63.59 (αC), 127.94 (CH), 129.34 (CH), 138.27 (C), 143.20 (C), 175.17 (C=O) ppm.

C₁₄H₂₁NO₄S (299.39): calcd. C 56.16; H, 7.07; N, 4.68; encontrado C, 56.45; H, 7.01; N, 4.77.

- Síntese de Z-N(Et)-Aib-OMe **4d**



A Z-Aib-OMe (0.542 g, 2 mmol) em CH_2Cl_2 (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.786 g, 7 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.380 g, 4.4 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

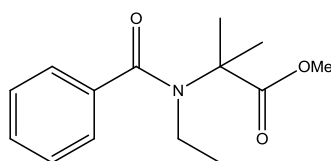
Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à secura obtendo-se um óleo acastanhado de massa 0.456 g e com um rendimento de 78%. Foi recristalizado de acetato de etilo – éter de petróleo obtendo-se um óleo acastanhado.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.19 (t, 3H, J = 6.8 Hz, CH_2CH_3), 1.50 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3.45 (q, 2H, J = 7.2 Hz, CH_2CH_3), 3.61 (br. s, 3H, OCH_3), 5.13 (s, 2H, CH_2 Z), 7.28-7.35 (m, 5H, ArH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 15.84 (CH_2CH_3), 24.66 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 38.14 (CH_2CH_3), 52.10 (OCH_3), 61.05 (αC), 67.00 (CH_2 Z), 127.84 (CH), 128.32 (CH), 128.34 (CH), 136.58 (C), 155.48 ($\text{C}=\text{O}$), 175.22 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

HRMS (ESI): calculado for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_4$ 280.15488; obtido 280.15433.

- Síntese de Bz-N(Et)-Aib-OMe **4e**



A Bz-Aib-OMe (0.221 g, 1 mmol) em CH₂Cl₂ (15-20 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (0.392 g, 3.5 mmol, 3.5 eq.) e tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.190 g, 2.2 mmol, 2.2 eq.) e deixou-se em agitação sob atmosfera de azoto durante 1h.

Terminada a reação adicionou-se 50 mL de diclorometano e extraiu-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secura obtendo-se um sólido amarelo de massa 0.190 g e com um rendimento de 73%. Foi recristalizado de acetato de etilo – éter de petróleo obtendo-se um sólido incolor.

p.f. = 116.0-117.0 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.13 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 1.61 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3.39 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 7.36-7.40 (m, 5H, ArH) ppm.

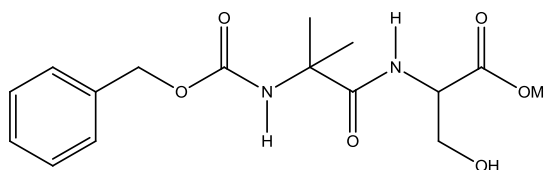
¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 17.04 (CH₂CH₃), [C(CH₃)₂], 40.40 (CH₂CH₃), 52.28 (OCH₃), 61.06 (αC), 126.01 (CH), 128.34 (CH), 129.07 (CH), 137.35 (C), 172.02 (C=O), 174.78 (C=O) ppm.

C₁₄H₁₉NO₃ (249.31): calculado C, 67.45; H, 7.68; N, 5.62; obtido C, 67.66; H, 7.66; N, 5.75.

4.3 Síntese de dipéptidos, desidrodipéptidos e dipéptido/desidrodipéptidos *N*-etilados

4.3.1 Síntese de esteres metílicos de *N*-benziloxycarbonildipéptidos

- Síntese de Z-Aib-Ser-OMe **5a**



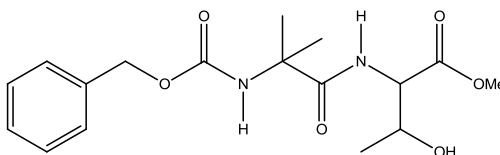
Dissolveu-se Z-Aib-OH (1.256 g, 5 mmol) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se 1-hidroxibenzotriazole hidratado (0.6765 g, 5 mmol) e DCC (1.067 g, 5.5 mmol, 1.1 eq.). Seguidamente adicionou-se o clorohidrato do éster metílico da serina (0.7828 g, 5 mmol) e depois de 1h adicionou-se trietilamina (6.9 mL, 0.5056 g, 5 mmol) e deixou-se em agitação à T.A. durante 24h.

Terminada a reação removeu-se a ureia por filtração a vácuo e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se em acetona e colocou-se no frio durante 2h. Filtrou-se novamente e levou-se a mistura reacional à secura. Dissolveu-se em acetato de etilo (40 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x20 mL), NaHCO_3 (3x20 mL) e solução saturada de NaCl (3x20 mL). A fase orgânica com seca (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à secura tendo-se obtido um sólido viscoso branco de massa 1.267 g com um rendimento de 75%.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.52, 1.54 [2s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$], 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.86 (dd, 2H, J = 3.6 e 11.6 Hz, CH_2 Ser), 4.08 (br s, 1H, OH), 4.58 (t, 1H, J = 3.6 Hz, αCH), 5.08 (s, 2H, CH_2 Z), 5.38 (s, 1H, NH Aib), 7.03 (br. d, 1H, J = 5.6 Hz, NH Ser), 7.30-7.39 (m, 5H, ArH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 24.70, 26.14 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 52.66 (OCH_3), 55.16 (αCH), 57.01 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 62.07 (CH_2 Ser), 67.18 (CH_2 Z), 128.13 (CH), 128.32 (CH), 128.58 (CH), 135.80 (C), 155.68 (C=O), 170.94 (C=O), 173.75 (C=O) ppm

- Síntese de Z-Aib-Thr-OMe **5b**



Dissolveu-se Z-Aib-OH (1.660 g, 7 mmol) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se 1-hidroxibenzotriazole hidratado (0.946 g, 7 mmol) e DCC (1.494 g, 7.7 mmol, 1.1 eq.). Seguidamente adicionou-se o cloridrato do éster metílico da treonina (0.834 g, 7 mmol) e depois de 1h adicionou-se trietilamina (10 mL, 0.708 g, 7 mmol) e deixou-se em agitação à T.A. durante 24h.

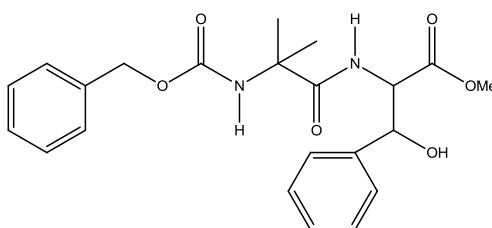
Terminada a reação removeu-se a ureia por filtração a vácuo e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se em acetona e colocou-se no frio durante 2h. Filtrou-se novamente e levou-se a mistura reacional à secar. Dissolveu-se em acetato de etilo (40 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x20 mL), NaHCO₃ (3x20 mL) e solução saturada de NaCl (3x20 mL). A fase orgânica com seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secar tendo-se obtido um sólido branco de massa 2.097g e com um rendimento de 85%. Foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano obtendo-se um sólido branco.

p.f. = 70-72 °C

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.19 (d, 3H, *J* = 6.4Hz, γCH₃), 1.53, 1.58 [s, 6H, (CH₃)₂], 2.35 (br. s, 1H, OH), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.22-4.27 (m, 1H, βCH), 4.57 (dd, 1H, *J* = 2.8 Hz, *J* = 8.8 Hz, αCH), 5.10 (s, 2H, CH₂ Z), 5.42 (br. s, 1H, NH), 6.95 (br. d, 1H, *J* = 7.6 Hz, NH), 7.35-7.36 (m, 5H, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ= 19.95 (CH₃), 32.17 [C(CH₃)₂], 52.47 (OCH₃), 57.13 [C(CH₃)₂], 57.42 (αCH), 66.91 (CH₂), 68.44 (βCH), 128.14 (CH), 128.22 (CH), 128.54 (CH), 136.09 (C), 155.10 (C=O), 171.39 (C=O), 174.42 (C=O) ppm.

- Síntese de Z-Aib-Phe(βOH)-OMe **5c**



Dissolveu-se Z-Aib-OH (1.660 g, 7 mmol) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se 1-hidroxibenzotriazole hidratado (0.946 g, 7 mmol) e DCC (1.494 g, 7.7 mmol, 1.1 eq.). Seguidamente adicionou-se o cloridrato do éster metílico da fenilserina (2.465 g, 7 mmol) e depois de 1h adicionou-se trietilamina (10 mL, 0.708 g, 7 mmol) e deixou-se em agitação à T.A. durante 24h.

Terminada a reação removeu-se a ureia por filtração a vácuo e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se em acetona e colocou-se no frio durante 2h. Filtrou-se

novamente e levou-se a mistura reacional à secura. Dissolveu-se em acetato de etilo (40 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x20 mL), NaHCO_3 (3x20 mL) e solução saturada de NaCl (3x20 mL). A fase orgânica com seca (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à secura tendo-se obtido um sólido branco de massa 2.097g e com um rendimento de 85%. Foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano obtendo-se um sólido branco.

p.f. 102-104 °C.

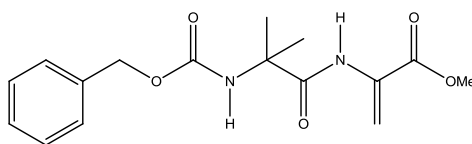
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.43 [s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$], 3.67 (s, 3H, OCH_3), 4.87 (dd, 1H, J = 4.0 e 8.8 Hz, βCH), 5.07 (s, 2H, CH_2), 5.14 (br. s, 1H, αCH), 5.38 (br. s, 1H, NH), 7.01 (br. s, 1H, NH), 7.32-7.36 (m, 10H, ArH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 25.51 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 52.47 (OCH_3), 56.98 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 58.41 (βCH), 66.90 (CH_2), 74.09 (αCH), 125.92 (CH), 128.06 (CH), 128.18 (CH), 128.30 (CH), 128.54 (CH), 136.09 (C), 139.41 (C), 155.13 ($\text{C}=\text{O}$), 170.87 ($\text{C}=\text{O}$), 174.23 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6$ (414.18): calculado C, 63.76; H, 6.32; N, 6.76; O, 23.16; obtido C, 64.13; H, 6.30; N, 6.74.

4.3.2 Síntese de esteres metílicos de *N*-benziloxycarbonildesidrodipéptidos

- Síntese de Z-Aib- Δ Ala-OMe **6a**



A uma solução de Z-Aib-Ser-OMe (0.507 g, 1.5 mmol) em ACN seco (5-10 mL) adicionou-se DMAP (0.018 g, 0.15 mmol, 0.1 eq.) e $(\text{Boc})_2\text{O}$ (0.327 g, 1.5 mmol) e agitou-se à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC acetato de etilo-éter de petróleo (1:1).

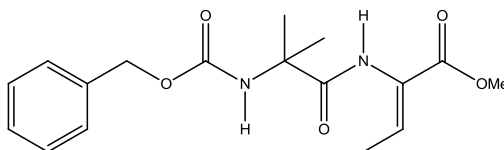
Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em éter dietílico (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à secura obtendo-se um sólido branco de massa 0.2049g e com um rendimento de 46%.

p.f. = 58.0-60.0 °C

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.57 [s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$], 3.83 (s, 3H, OCH_3), 5.11 (s, 2H, CH_2 Z), 5.29 (br. s, 1H, J = 2,8 Hz, NH), 5.90 (s, 1H, βCH_2), 6.60 (s, 1H, βCH_2), 7.34-7.36 (m, 5H, ArH), 8.59 (s, 1H, NH) ppm.

^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3): δ = 25.43 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 52.90 (OCH_3), 57.65 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 66.96 (CH_2), 108.83 (βCH_2), 128.12 (CH), 128.18 (CH), 128.52 (CH), 130.85 (αC), 136.02 (C), 154.95 (C=O), 164.49 (C=O), 172.92 (C=O) ppm.

- Síntese de Z-Aib- Δ Abu-OMe **6b**



A uma solução de Z-Aib-Thr-OMe (0.324 g, 1 mmol) em ACN seco (5-10 mL) adicionou-se DMAP (0.018 g, 0.15 mmol, 0.1 eq.) e $(\text{Boc})_2\text{O}$ (0.327 g, 1.5 mmol) e agitou-se à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

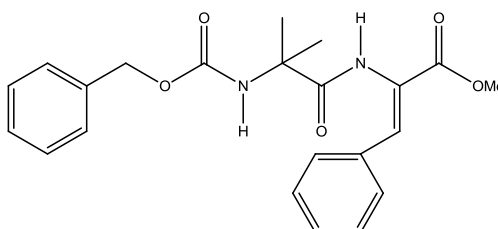
Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em éter dietílico (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à secura obtendo-se um sólido branco de massa 0.1905g e com um rendimento de 62%.

p.f. = 56-58 °C.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.60 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 1.75 (d, 3H, J = 7.2 Hz, γCH_3), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 5.12 (s, 2H, CH_2Z), 5.31 (br. s, 1H, NH), 6.81 (q, 1H, J = 7.2 Hz, βCH), 7.32-7.37 (m, 5H, ArH), 7.70 (br. s, 1H, NH) ppm.

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 13.98, 14.03 (γCH_3), 27.57, 27.86 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 52.35, 52.52 (OCH_3), 60.27 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 64.76 (CH_2), 122.89 (αC), 126.77 (CH), 127.24 (CH), 128.25 (CH), 128.35 (CH), 148.24 (C), 162.74 (C=O), 173.54 (C=O), 176.15 (C=O) ppm.

- Síntese de Z-Aib- $\Delta\text{Phe-OMe}$ **6c**



A uma solução de Z-Aib-Phe(βOH)-OMe (0.415 g, 1 mmol) em ACN seco (5-10 mL) adicionou-se DMAP (0.018 g, 0.15 mmol, 0.1 eq.) e $(\text{Boc})_2\text{O}$ (0.327 g, 1.5 mmol) e agitou-se à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em éter dietílico (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à secra obtendo-se um sólido branco de massa 0.303 g. Foi recristalizado de aceto de etilo – *n*-hexano obtendo-se um sólido branco com um rendimento de 77%.

p.f. = 105-107 °C

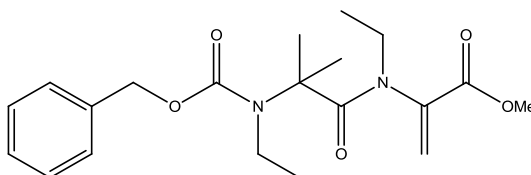
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.60 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3.83 (s, 3H, OCH_3), 5.12 (s, 2H, CH_2Z), 5.33 (s, 1H, NH), 7.32-7.40 (m, 10H, ArH), 7.52 (s, 1H, βCH), 8.03 (s, 1H, NH) ppm.

^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3): δ = 25.16 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 52.58 (OCH_3), 57.37 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 66.95 (CH_2), 124.12 (αC) 128.08 (CH), 128.24 (CH), 128.43 (CH), 128.54 (CH), 129.37 (CH), 129.82 (CH), 132.18 (CH), 133.64 (C), 135.89 (C), 155.15 ($\text{C}=\text{O}$), 165.60 ($\text{C}=\text{O}$), 172.73 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ (396.44): calculado C, 66.65; H, 6.10; N, 7.07; O, 20.18; obtido C, 66.38; H, 6.13; N, 7.36.

4.3.3 Tentativa de síntese de esteres metílicos de *N*-etil, *N*-benziloxicarbonildesidrodipéptidos

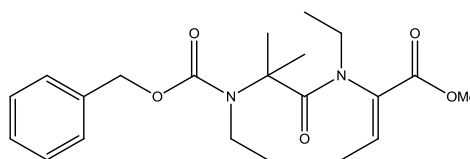
- Tentativa de síntese de *Z*-*N*(Et)-Aib-*N*(Et)- Δ ala-OMe **8a**



A uma solução de *Z*-Aib- Δ Ala-OMe (0.120 g, 0.4 mmol) em CH_2Cl_2 seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.190 g, 1 mmol, 2.5 eq.) e *tert*-butóxido de potássio (0.157 g, 1.4 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.1339g.

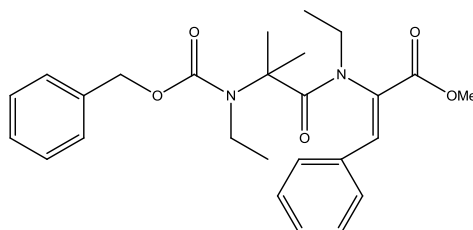
- Tentativa de síntese de *Z*-*N*(Et)-Aib-*N*(Et)- Δ Abu-OMe **8b**



A uma solução de Z-Aib- Δ Abu-OMe (0.164 g, 0.5 mmol) em CH_2Cl_2 seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.237 g, 1.25 mmol, 2.5 eq.) e *tert*-butóxido de potássio (0.196 g, 1.75 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo branco de massa 0.110 g.

- Tentativa de síntese de Z-N(Et)-Aib-N(Et)- Δ Phe-OMe **8c**

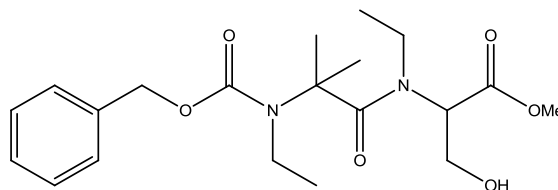


A uma solução de Z-Aib- Δ Phe-OMe (0.191 g, 0.5 mmol) em CH_2Cl_2 seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.237 g, 0.5 mmol, 2.5 eq.) e *tert*-butóxido de potássio (0.196 g, 1.75 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.104 g.

4.3.4 Tentativa de síntese de esteres metílicos de *N*-etil, *N*-benziloxycarbonildipéptidos

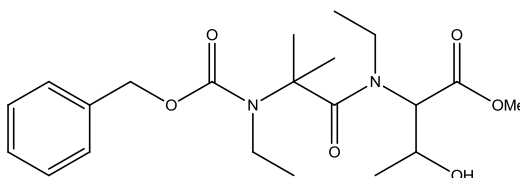
- Tentativa de síntese de *Z*-*N*(Et)-Aib- *N*(Et)-Ser-OMe **7a**



A uma solução de *Z*-Aib-Ser-OMe (0.135 g, 0.4 mmol) em CH₂Cl₂ seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.334 g, 1.76 mmol, 4.0 eq.) e *tert*-butóxido de potássio (0.157 g, 1.4 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.145 g.

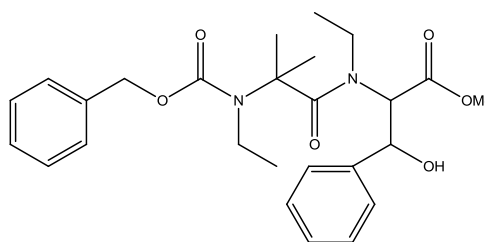
- Tentativa de síntese de *Z*-*N*(Et)-Aib- *N*(Et)-Thr-OMe **7b**



A uma solução de *Z*-Aib-Thr-OMe (0.352 g, 1.0 mmol) em CH₂Cl₂ seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.334 g, 4 mmol, 4.0 eq.) e *tert*-butóxido de potássio (0.393 g, 3.5 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.408 g.

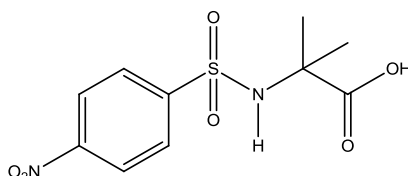
- Tentativa de síntese de Z-*N*(Et)-Aib-*N*(Et)-Phe(β OH)-OMe **7c**



A uma solução de Z-Aib-Phe(β OH)-OMe (0.415 g, 1.0 mmol) em CH_2Cl_2 seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.756 g, 4 mmol, 4.0 eq.) e *tert*-butóxido de potássio (0.393 g, 3.5 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO_4 (3x30 mL), NaHCO_3 (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO_4 anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.293 g.

4.3.5 Desproteção do éster metílico de de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)- $\text{C}^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina



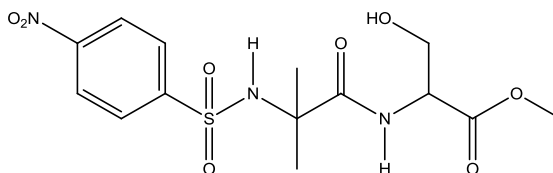
A uma solução de Nosil-Aib-OMe (1.515 g, 0.5 mmol) em dioxano (5 mL) adicionou-se NaOH (3 mL). A mistura reacional foi agitada à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação, acidificou-se com KHSO_4 a um pH de 2-3 e extraiu-se com acetato de etilo (3x10 mL). Recolheram-se as fases orgânicas, secaram-se com MgSO_4 anidro e evaporou-se obtendo-se um sólido amarelo de massa de 1.443 g e com um rendimento de 99.8%.

^1H RMN (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 1.29 [s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$], 5.80 (s, 1H, NH), 8.02 (d, J = 2.1Hz, 2H, ArH), 8.38 (d, J = 2.1 Hz, 2H, ArH), 12.59 (s, 1H, OH) ppm.

4.3.6 Síntese de esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)dipéptidos

- Síntese de Nosil-Aib-Ser-OMe **9a**



Dissolveu-se Nosil-Aib-OH (0.242 g, 1 mmol) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se 1-hidroxibenzotriazole hidratado (0.135 g, 1 mmol) e DCC (0.214 g, 1.1 mmol, 1.1 eq.). Seguidamente adicionou-se o cloridrato do éster metílico da serina (0.156 g, 1 mmol) e depois de 1h adicionou-se trietilamina (0.14 mL, 0.101 g, 1 mmol) e deixou-se em agitação à T.A. durante 24h.

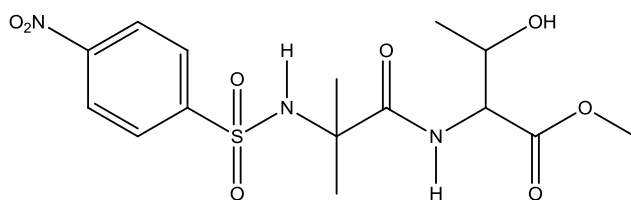
Terminada a reação removeu-se a ureia por filtração a vácuo e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se em acetona e colocou-se no frio durante 2h. Filtrou-se novamente e levou-se a mistura reacional à secura. Dissolveu-se em acetato de etilo (40 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x20 mL), NaHCO₃ (3x20 mL) e solução saturada de NaCl (3x20 mL). A fase orgânica com seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secura tendo-se obtido um sólido amarelo. Este foi recristalizado de acetato de etilo-*n*-hexano (2:1) resultando um sólido amarelo de massa 0.361 g com um rendimento de 93%.

p.f. = 96-98 °C

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.24, 1.28 [2s, 6H, (CH₃)₂], 3.35 (s, 1H, OH), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (d, 2H, *J* = 4.4 Hz, βCH₂), 4.19 (dd, 1H, *J* = 4.4 Hz, *J* = 8.0 Hz, αCH), 7.64 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, NH Ser), 8.06 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, ArH), 8.38 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, ArH), 8.42 (s, 1H, NH) ppm.

¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-d₆): δ = 25.30, 25.94 [(CH₃)₂], 51.88 (OCH₃), 54.84 (αCH), 58.99 (αC), 60.99 (CH₂), 124.41 (CH), 127.98 (CH), 148.44 (C), 149.36 (C), 170.70 (C=O), 173.16 (C=O) ppm.

- Síntese de Nosil-Aib-Thr-OMe **9b**



Dissolveu-se Nosil-Aib-OH (1.440 g, 5 mmol) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se 1-hidroxibenzotriazole hidratado (0.676 g, 5mmol) e DCC (1.067 g, 5.5 mmol, 1.1 eq.). Seguidamente adicionou-se o cloridrato do éster metílico da treonina (0.848 g, 5 mmol) e depois de 1h adicionou-se trietilamina (0.69 mL, 0.506 g, 5 mmol) e deixou-se em agitação à T.A. durante 24h.

Terminada a reação removeu-se a ureia por filtração a vácuo e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se em acetona e colocou-se no frio durante 2h. Filtrou-se novamente e levou-se a mistura reacional à secura. Dissolveu-se em acetato de etilo (40 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x20 mL), NaHCO₃ (3x20 mL) e solução saturada de NaCl (3x20 mL). A fase orgânica com seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secura. Foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo – éter de petróleo (2:1)] obtendo-se um sólido branco de massa 1.853 g com um rendimento de 92%.

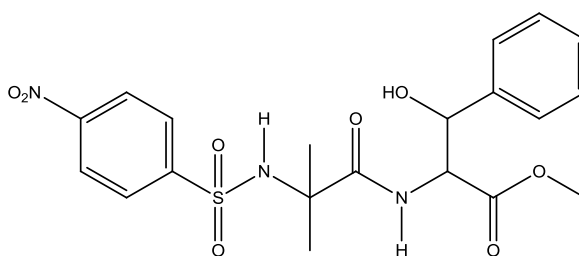
p.f. = 69-71 °C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.27 (d, 3H, *J* = 7.2 Hz, γCH₃), 1.47, 1.49 [2s, 6H, (CH₃)₂], 3.79 (s, 3H, OCH₃), 4.40-4.43 (m, 1H, βCH), 4.55 (dd, 1H, *J* = 2.4 Hz, *J* = 8.8 Hz, αCH), 6.38 (s, 1H, NH Aib), 7.08 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz, NH Thr), 8.12 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 8.36 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 20.05 (γCH₃), 25.36, 26.40 [(CH₃)₂], 52.75 (OCH₃), 57.61 (αCH), 60.24 [C(CH₃)₂], 68.12 (βCH), 124.38 (CH), 128.19 (CH), 148.20 (C), 149.97 (C), 171.52 (C=O), 174.25 (C=O) ppm.

C₁₅H₂₁N₃O₈S (403.41): calculado C, 44.66; H, 5.25; N, 10.42; S, 7.95; obtido C, 45.39; H, 4.72; N, 10.80; S, 8.76.

- Síntese de Nosil-Aib-Phe(β OH)-OMe **9c**



Dissolveu-se Nosil-Aib-OH (0.968 g, 4 mmol) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se 1-hidroxibenzotriazole hidratado (0.541 g, 4 mmol) e DCC (0.854 g, 4.4 mmol, 1.1 eq.). Seguidamente adicionou-se o cloridrato do éster metílico da fenilserina (0.926 g, 4 mmol) e depois de 1h adicionou-se trietilamina (0.55 mL, 0.405 g, 4 mmol) e deixou-se em agitação à T.A. durante 24h.

Terminada a reação removeu-se a ureia por filtração a vácuo e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se em acetona e colocou-se no frio durante 2h. Filtrou-se novamente e levou-se a mistura reacional à secura. Dissolveu-se em acetato de etilo (40 mL) e lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x20 mL), NaHCO₃ (3x20 mL) e solução saturada de NaCl (3x20 mL). A fase orgânica com seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secura tendo-se obtido um sólido amarelo. Foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano resultando num sólido amarelo de massa 1.757 g com um rendimento de 95%.

p.f. = 141-143 °C

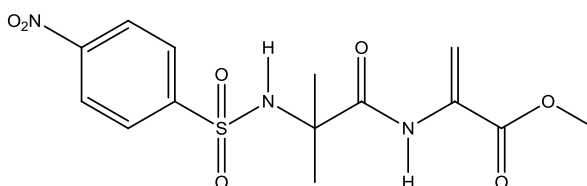
¹H NMR. (300MHz, CDCl₃): δ = 1.49 [s, 6H, (CH₃)₂], 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 4.78 (dd, 1H, *J* = 3.0 Hz e 8.7 Hz, β CH), 5.36 (d, 1H, *J* = 3 Hz, α CH), 6.09 (s, 1H, NH Aib), 6.89 [d, 1H, *J* = 9.3 Hz, NH Phe(β -OH)], 7.33-7.35 [m, 5H, Phe(β -OH)], 8.01 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH Nosyl), 8.08 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH Nosyl), 8.30 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH Nosyl), 8.35 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH Nosyl) ppm

¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ = 25.82, 26.03 [C(CH₃)₂], 50.91 (α CH), 52.04 (β CH), 53.09 (OCH₃), 59.62 [C(CH₃)₂], 124.20 (CH), 125.69 (CH), 128.19 (CH), 128.23 (CH), 128.33 (CH), 128.39 (CH), 130.65 (CH), 139.23 (C), 139.38 (C), 148.16 (C), 149.86 (C), 171.17 (C=O), 174.14 (C=O) ppm.

C₂₀H₂₃N₃O₈S (465.48): calculado C 51.61, H 4.98, N 9.03, S 6.89; obtido C 50.20, H 5.05, N 9.64, S 7.35.

4.3.7 Síntese de esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos

- Síntese de Nosil-Aib-ΔAla-OMe **10a**



A uma solução de Nosil-Aib-Ser-OMe (0.522 g, 1.3 mmol) em ACN seco (5-10 mL) adicionou-se DMAP (0.018 g, 0.15 mmol, 0.1 eq.) e (Boc)₂O (0.327 g, 1.5 mmol) e agitou-se à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secura obtendo-se um sólido amarelo de massa 0.520 g. Foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano obtendo-se um sólido amarelo com um rendimento de 94%.

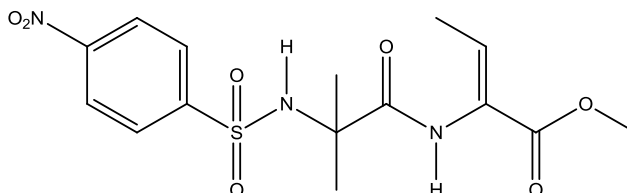
p.f. = 114-116 °C

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.53 [s, 6H, (CH₃)₂], 3.87 (s, 3H, OCH₃), 5.92 (s, 1H, βCH₂), 6.53 (s, 1H, βCH₂), 8.10 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 8.35 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 8.39 (br. s, 1H, NH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 26.04 [(CH₃)₂], 53.21 (OCH₃), 60.59 [C(CH₃)₂], 109.58 (CH₂), 124.38 (CH), 128.32 (CH), 130.37 (αC, ΔAla), 147.73 (C), 150.00 (C), 164.41 (C=O), 171.71 (C=O) ppm.

C₁₄H₁₇N₃O₇S (371.37): calculado C, 45.28; H, 4.61; N, 11.32; S, 8.63; obtido C, 45.39; H, 4.72; N, 10.80; S, 8.76.

- Síntese de Nosil-Aib-ΔAbu-OMe **10b**



A uma solução de Nosil-Aib-Thr-OMe (0.403 g, 1 mmol) em ACN seco (5-10 mL) adicionou-se DMAP (0.018 g, 0.15 mmol, 0.1 eq.) e (Boc)₂O (0.327 g, 1.5 mmol) e agitou-se à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC acetato de etilo-éter de petróleo (1:1).

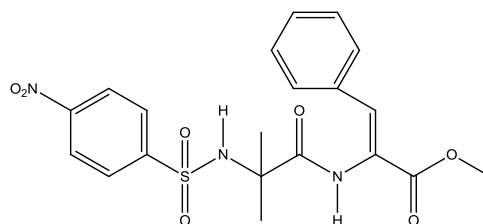
Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secura obtendo-se um sólido branco de massa 0.363g e com um rendimento de 94%.

p.f. = 155-156 °C

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.53 [s, 6H, (CH₃)₂], 1.78 (d, 3H, J = 7.2 Hz, γCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 6.18 (s, 1H, NH), 6.87 (q, 1H, J = 7.2 Hz, βCH), 7.56 (s, 1H, NH), 8.11 (d, 2H, J = 8.8 Hz, ArH), 8.36 (d, 2H, J = 8.8 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 14.51 (γCH₃), 26.03 [C(CH₃)₂], 52.47 (OCH₃), 60.36 [C(CH₃)₂], 124.32 (CH), 124.40 (CH), 125.53 (C), 128.23 (CH), 128.97 (CH), 135.40 (CH), 148.15 (C), 149.97 (C), 164.77 (C=O), 172.03 (C=O) ppm.

- Síntese de Nosil-Aib- Δ Phe-OMe **10c**



A uma solução de Nosil-Aib-Phe(β OH)-OMe (0.698 g, 1.5 mmol) em ACN seco (5-10 mL) adicionou-se DMAP (0.018 g, 0.15 mmol, 0.1 eq.) e (Boc)₂O (0.327 g, 1.5 mmol) e agitou-se à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secua obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.430 g. O óleo foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano com um rendimento 64%.

p.f. = 133 – 135 °C

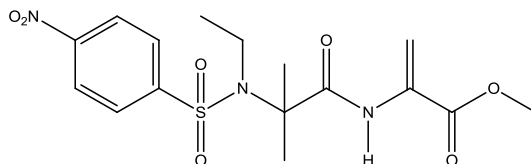
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.52 [s, 6H, (CH₃)₂], 3.85 (s, 3H, OCH₃), 6.20 (s, 1H, NH), 7.37-7.39 [m, 3H, ArH Phe(β -OH)], 7.46 (s, 1H, β CH), 7.50-7.53 [m, 2H, ArH Phe(β -OH)], 7.82 (s, 1H, NH), 8.05 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH Nosyl), 8.32 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH Nosyl) ppm.

¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ = 25.66 [C(CH₃)₂], 52.79 (OCH₃), 60.32 [C(CH₃)₂], 123.55 (C), 124.35 (CH), 128.16 (CH), 128.20 (CH), 128.63 (CH), 129.75 (CH), 133.27 (CH), 133.38 (C), 148.20 (C), 149.90 (C), 165.38 (C=O), 172.09 (C=O) ppm.

C₂₀H₂₁N₃O₇S (447.47): calculado C 53.68, H 4.73, N 9.39, S 7.17; obtido C 53.49, H 4.88, N 9.37, S 6.13.

4.3.8 Síntese de ésteres metílicos de *N*-etil, *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)desidrodipéptidos

- Síntese de Nosil-*N*(Et)-Aib-ΔAla-OMe **12a**



A uma solução de Nosil-*N*(Et)-Aib-Ser-OMe (0.209 g, 0.5 mmol) em ACN seco (25 mL) adicionou-se DMAP (0.006 g, 0.05 mmol, 0.1 eq.) e (Boc)₂O (0.109 g, 0.5 mmol). A mistura reacional foi agitada à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixar em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

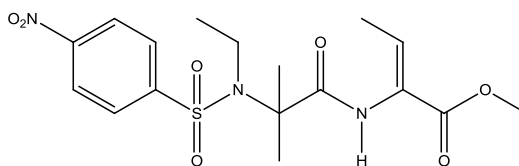
Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secra obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.189 g. Foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano obtendo-se um sólido amarelo com um rendimento de 91%.

p.f. = 138.5 – 140.5 °C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.21 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 1.49, 1.54 [2s, 6H, (CH₃)₂], 3.49 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 3.87, 3.89 (2s, 3H, OCH₃), 5.88-5.94 (m, 1H, βCH₂), 6.53, 6.63 (2s, 1H, βCH₂), 8.07-8.11 (m, 2H, ArH), 8.33-8.38 (m, 2H, ArH).

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 15.25, 16.51 (CH₂CH₃), 25.82, 26.08 [(CH₃)₂], 41.98 (CH₂CH₃), 53.20 (OCH₃), 66.21 (αC Aib), 108.92, 109.57 (βCH₂), 124.32 (CH), 128.34, 129.04 (CH), 130.37 (C), 148.15 (C), 149.99 (C), 164.39 (C=O), 171.67 (C=O) ppm.

- Síntese de Nosil-*N*(Et)-Aib- Δ Abu-OMe **12b**



A uma solução de Nosil-*N*(Et)-Aib-Thr-OMe (0.156 g, 0.4 mmol) em ACN seco (25 mL) adicionou-se DMAP (0.005 g, 0.04 mmol, 0.1 eq.) e (Boc)₂O (0.080 g, 0.5 mmol). A mistura reacional foi agitada à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixar em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

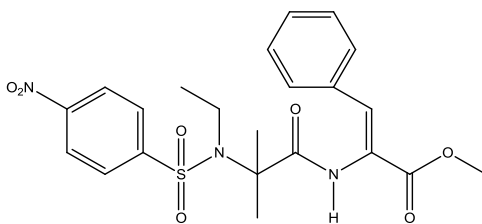
Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secua obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.091 g. Foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano obteve-se um sólido amarelo com um rendimento de 69%.

p.f. = 153 – 155 °C

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.31 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 1.64 [s, 6H, (CH₃)₂], 1.69 (d, 3H, *J* = 7.2 Hz, γ CH₃), 3.64-3.66 (m, 5H, CH₂CH₃ + OCH₃), 6.79 (q, 1H, *J* = 7.2 Hz, β CH), 6.93 (d, 2H, *J* = 9.6 Hz, ArH), 7.77 (br. s, 1H, NH), 8.12 (d, 2H, *J* = 9.6 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 14.48 (γ CH₃), 14.58 (CH₂CH₃), 24.56, 25.83 [C(CH₃)₂], 41.88 (CH₂CH₃), 52.23 (OCH₃), 64.81 [C(CH₃)₂], 117.22 (CH), 125.07 (CH), 125.76 (CH), 134.17 (C), 139.90 (C), 151.57 (C), 164.60 (C=O), 173.95 (C=O) ppm.

- Síntese de Nosil-*N*(Et)-Aib- Δ Phe-OMe **12c**



A uma solução de Nosil-*N*(Et)-Aib-Phe(β -OH)-OMe (0.085 g, 0.2 mmol) em ACN seco (25 mL) adicionou-se DMAP (0.002 g, 0.02 mmol, 0.1 eq.) e (Boc)₂O (0.044 g, 0.2 mmol). A mistura reacional foi agitada à T.A. seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Seguidamente adicionou-se TMG (0.2 mL) e deixar em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (120 mL). Lavou-se a fase orgânica com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secra obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.071 g. Foi recristalizado de acetato de etilo – *n*-hexano obtendo-se um sólido amarelo com um rendimento de 88%.

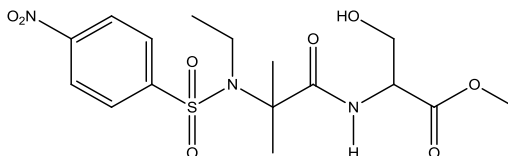
p.f. = 159.5 – 161.5 °C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.28 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 1.62 [s, 6H, (CH₃)₂], 3.65 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 6.96 (br. s, 1H, NH) 7.19-7.29 (m, 8H, ArH + β H), 8.15 (d, 2H, *J* = 9.6 Hz, ArH Nosyl) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 14.47 (CH₂CH₃), 24.23 [(CH₃)₂], 41.89 (CH₂CH₃), 52.62 (OCH₃), 64.95 (α C Aib), 117.34 (CH), 124.66 (C), 125.25 (CH), 128.47 (CH), 128.99 (CH), 129.27 (CH), 130.97 (CH), 133.60 (C), 140.26 (C), 151.23 (C), 165.25 (C=O), 175.03 (C=O) ppm.

4.3.9 Síntese de esteres metílicos de N-etil, N-(4-nitrobenzenesulfonyl)dipéptidos

- Síntese de Nosil-*N*(Et)-Aib-Ser-OMe **11a**



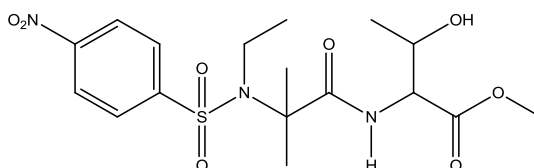
A uma solução de Nosil-Aib-Ser-OMe (0.297 g, 0.76 mmol) em CH₂Cl₂ seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.361 g, 1.9 mmol, 2.5 eq.) e DIPEA (0.464 mL, 0.343 g, 2.66 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.302 g e com um rendimento de 95%.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.26-1.31 (m, 3H, CH₂CH₃), 1.62 [s, 6H, (CH₃)₂], 3.27-3.45 (m, 2H, CH₂CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.97 (dd, 1H, *J* = 3.2 Hz, *J* = 11.6 Hz, βCH₂), 4.10-4.18 (m, 1H, βCH₂), 4.60-4.64 (m, 1H, αCH), 7.02 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz, NH), 8.23 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 8.37 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 16.42 (CH₂CH₃), 25.79, 26.36 [C(CH₃)₂], 40.94 (CH₂CH₃), 52.87 (OCH₃), 55.47 (αCH), 62.13 (βCH₂), 65.11 [C(CH₃)₂], 124.26 (CH), 129.32 (CH), 146.37 (C), 150.15 (C), 170.88 (C=O), 174.04 (C=O) ppm.

- Síntese de Nosil-*N*(Et)-Aib-Thr-OMe **11b**



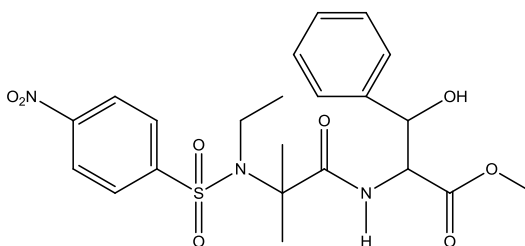
A uma solução de Nosil-Aib-Thr-OMe (0.153 g, 0.4 mmol) em CH₂Cl₂ seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.190 g, 1 mmol, 2.5 eq.) e DIPEA (0.244 mL, 0.181g, 1.4 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50 mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL). Secou-se a fase orgânica (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à securo obtendo-se um sólido branco de massa 0.158 g e com um rendimento de 94%.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.23-1.33 (m, 6H, CH₂CH₃ + γCH₃), 1.60-1.63 [2s, 6H, C(CH₃)₂], 3.41-3.46 (m, 2H, CH₂CH₃], 3.77 (s, 3H, OCH₃), 4.36-4.41 (m, 1H, βCH), 4.54 (dd, 1H, *J* = 2.8 Hz, *J* = 8.6 Hz, αCH), 7.00 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, NH), 8.17 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 8.34 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 16.48 (CH₂CH₃), 20.11 (γCH₃), 25.96, 26.09 [C(CH₃)₂], 41.76 (CH₂CH₃), 52.56 (OCH₃), 57.71 (αCH), 65.49 [C(CH₃)₂], 68.15 (βCH), 124.23 (CH), 129.01 (CH), 147.10 (C), 149.95 (C), 171.22 (C=O), 174.45 (C=O) ppm.

- Síntese de Nosil-*N*(Et)-Aib-Phe(βOH)-OMe **11c**



A uma solução de Nosil-Aib-Phe(βOH)-OMe (0.208 g, 0.5 mmol) em CH₂Cl₂ seco (20 mL) adicionou-se tetrafluoroborato de trietiloxônio (0.237 g, 1.25 mmol, 2.5 eq.) e DIPEA (0.305 mL, 0.226 g, 1.75 mmol, 3.5 eq.). A mistura reacional foi agitada à T.A. durante 1h sob atmosfera de azoto.

Terminada a reação dissolveu-se em diclorometano (50mL) e a fase orgânica foi lavada com KHSO₄ (3x30 mL), NaHCO₃ (3x30 mL) e solução saturada de NaCl (3x30 mL).

Secou-se a fase orgânica (MgSO₄ anidro) e evaporou-se à secua obtendo-se um óleo amarelo de massa 0.207 g e com um rendimento de 93%.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.19-1.24 (m, 3H, CH₂CH₃), 1.44 [s, 6H, (CH₃)₂], 3.21 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂CH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 4.84 (dd, 1H, *J* = 3.2 Hz, βCH), 5.38 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H, αCH), 7.13 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, NH), 7.32-7.38 (m, 5H, ArH), 8.04 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, ArH), 8.32 (d, 2H, *J* = 9.2 Hz, ArH) ppm.

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 15.22, 16.46 (CH₂CH₃), 25.55, 26.17 [C(CH₃)₂], 42.57 (CH₂CH₃), 52.64 (OCH₃), 58.50 (βCH), 59.86 [C(CH₃)₂], 73.26 (αCH), 125.69 (CH), 125.71 (CH), 128.06 (CH), 128.18 (CH), 128.23 (CH), 128.41 (CH), 128.70 (CH), 139.36 (C), 139.54 (C), 148.18 (C), 149.86 (C), 170.64 (C=O), 173.87 (C=O) ppm.

Bibliografia

- 1 - T. MCKee, J. R. Mckee , “ Biochemistry – The molecular Basic of life” , McGraw-Hill, **2003**, 3rd Ed, págs. 8-11, 109-124;
- 2 - T.W.G. Solomons, “Química Orgânica”, 3ª Volume, Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. ,**1983**;
- 3 - Apontamentos de Lígia Rodrigues, “*Aminoácidos, péptidos e proteínas*” Universidade do Minho, **2011**;
- 4 – D. Voet, J.G. Voet, C.W. Pratt, *L. Fundamentals of biochemistry*, 2ª, Artmed, 77-81;
- 5 – R. O. Duthaler, *Tetrahedron*, **1994**, 50, 6, 1539-1650;
- 6 – J. M. Humphrey, A. R. Chamberlin, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 2243-2266;
- 7 – C. Gilon, M. A. Dechantsreiter, F. Burkhardt, A. Friedler, H. Kessler, *Chem. Org.*, **2003**; 22, 215-271.
- 8 - P. Melchiorri, L. Negri, *Gen. Pharmacol.*, **1996**, 27 1099–107;
- 9 – E. Juaristi, V. Soloshnok, *Wiley Online Library*, **2005**, 2ª ED, 1-17;
- 10 - F. Ikegami, I. Murakoshi, *Phytochemistry*, **1994**, 5, 1089-1104;
- 11 – L.D. Arnold, T.H. Kalantar, J.C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 7105-7109;
- 12 - H. Shinozaki, S. Konishi, *Neuropharmacology*, **1974**, 13, 665;
- 13 – G. Pereira, E.M.S Castanheira, P.M.T Ferreira, M.J.R.P Queiroz, *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 464-475;
- 14 – H.L.S. Maia, Monteiro, L.S., Sebastião, J., *Eur. J. Org. Chem*, **2001**, 1967-1970;
- 15 – Murakoshi, I., Ikegami, K., Kaneko, M., *Phytochemistry*, **1985**, 24, 9, 1907-1911;
- 16 – H. Maekawa, G. Ballano, C. Toniolo, N.-H. Ge, *J. Phys. Chem.*, **2011**, 115, 5168-5182;
- 17 – M. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **2007**, 55, 349-358;
- 18 – C. Toniolo, M. Crisma, F. Formaggio, C. Peggion, *Biopolymers*, **2002**, 60, 396-419;

- 19 – C. Dubuisson, Y. Fukumoto, L.S. Hegedus, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 3697-3709;
- 20 – D.J. Bennett, K. I. Buchanan, A. Cooke, O. Epemolu, N.M. Hamilton, E.J. Hutchinson, A. Mitchell, *J. Chem. Soc. Perkin Trans*, **2001**, 362-365;
- 21 – D.C. Cole, *Tetrahedron*, **1994**, 50, 32, 9517-9582;
- 22 – A.V. Sivakumar, G.S. Babu, S.V. Bhat, *Tetrahedron*, **2001**, 12, 1095-1099;
- 24 – J. Hunch, M. Mc Kiernan, J.A. Fehrentz, M.L. Roumestant, J. Martinez, *Eur. Peptide*, **2001**;
- 25 – H.J. Ha, Y.G. Ahn, J.S. Woo, S. Lee, W.K. Lee, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2001**, 74, 1667-1672;
- 26 – H. Wenschuh, M. Beyermann, H. Haber, J.K. Seydel, E. Krause, M. Bienert, L.A. Carpino, A. El-Faham, F. Albericio, *J. Org. Chem*, **1995**, 60, 405-410;
- 27 – S. Aravinda, N. Shamal, P. Balaram, *Chem. Biodivers*, **2008**, 5, 1238-1262
- 28 – H. Maekawa, G. Ballano, C. Tionolo, N.-H. Ge, *J. Phys. Chem, B*, **2011**, 115, 5168-5182;
- 29 – C. Cativiela, M. Ordóñez, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, 20, 1-63;
- 30 – C. Cativiela, M.D. Díaz-de-Villegas, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2007**, 18, 569-623;
- 31 – R. Subiros-Funosas, G.A. Acosta, A. El-Faham, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50, 6200-6202;
- 32 – A. Dömling, I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 38, 3168-3210;
- 33 – A. Dömling, *Chem. Rev.*, **2006**, 106, 17-89;
- 34 – P. Hoffmann, G. Gokel, D. Marquarding, I. Ugi, *In Isonitrile Chemistry*; Ugi, I., Ed.; Academic: New York, NY, 1971; p 9;
- 35 – C. J. Creighton, T.T. Romoff, J.H. Bu, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc*, **1999**, 121, 6786-6791;
- 36 – S.P.G. Costa, H.L.S. Maia, S.M.M.A. Pereira-Lima, *Org. Biol. Chem*, **2003**, 1, 1475-1479;

- 37- F.C.S.C. Pinto, S.M.M.A. Pereira-Lima, H.L.S. Maia, *Tetrahedron*, **2009**, 65, 9165-9179;
- 38 – M.T. Hamann, P.J. Scheur, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 5825-5826;
- 39 – D.E. Palmer, C. Pattaroni, K. Nunami, R. K. Chadha, M. Goodman, T. Wakamiya, K. Fukase, S. Horimoto, M. Kitazawa, H. Fujita, A. Kubo, T. Shiba, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 5634-5642;
- 40 – A.S. Abreu, “*Síntese de benzo[b]tienilaminoácidos*”, PhD Thesis, Department of Chemistry, University of Minho, **2006**;
- 41 – J. Sacramento, “*Síntese de aminoácidos não-proteinogénicos com potencial atividade biológica*”, Tese de Doutoramento, Departamento de Química, Universidade do Minho, **2002**;
- 42 – R. Jain,; V. S. Chauhan, *Biopolymers (Peptide Science)*, **1996**, 40, 105;
- 43 - Y. Inai,; Y. Kurokawa,; A. Ida,; , T. Hirabayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1999**, 71, 55;
- 44 - K. Goodall; A. F. Parson, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 3259;
- 45 - L. Kisfalud,; A. Patty; M. Low, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **1969**, 59, 159;
- 46 - K. Nakamura; T. Isaka; H. Toshima; M. Kodaka, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 7221;
- 47 - C.-G. Shin; K. Nanjo; E. Ando; J. Yoshimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1974**, 47, 3109;
- 48 –H. Wojciechowska, R. Pawlowicz, R. Andruszkiewicz, J. Grzybowska, *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 19, 4063;
- 49 – H. Ogura, O. Sato, K. Takeda, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 4817;
- 50 - P. Jouin, J. Poncet, M. N. Dufour, A. Pantaloni, B. Castro, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 617-627;
- 51 - W. A. Nugent, PCT Int. Appl. W09616021 (Cl. C07C231/14), US Appl. 340, 781, 17; *Chem. Abs.* **1996**, 143302k.
- 52 - L. Grehn, K. Gunnarsson; U. Ragnarsson, *Acta Chem. Scand., Ser. B* , **1986**, 40, 745.

- 53 - (a) P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, *Tetrahedron Lett.*, 1998, 39, 9575. (b) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sacramento, J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1999**, 1, 3697;
- 54 - P. M. T. Ferreira, L. S. Monteiro, G. Pereira, L. Ribeiro, J. Sacramento, L. Silva, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 5934;
- 55 - D.L. Boger, D. Yohannes, *J. Org. Chem*, **1988**, 53, 487-499;
- 56 - L. Aurelio, R. T. C. Brownlee, A. B. Hughes, *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 5823-5846;
- 57 - C. A. Bewley, D. J. Faulkner, *Angew. Chem.*, **1998**, 110, 2280- 2297;
- 58 - R. M. Wenger, *Chim. Helv, Acta*, **1983**, 66, 2308-2321;
- 59- P. Jouin, J. Poncet, M. N. Dufour, A. Pantaloni, B. Castro, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 617-627;
- 60 - J. M. Ramanjulu, X. Ding, M. M. Jouilli, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 4961-4969;
- 61 - K.S. Chu, G.R. Negrete, J. P. Konopelski, *J. Org. Chem*, **1991**, 56, 5196-5202;
- 62 - D.L. Boger, S. Teramoto, H. Cai, *Bioorg. Med. Chem*, **1997**, 5, 1477-1589;
- 63 - D.L. Boger, D. Yohannes, *J. Org. Chem*, **1988**, 53, 487-499;
- 64 - R. T. Shuman, E. L. Smithwick, R. C. A. Frederickson, P. D. Gesellchen, "Peptides: Proceedings of the 7th American Peptide Symposium (Eds.: D. Rich, E.Gross)" Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA, **1981**, p. 617;
- 65- F. Hubler, T. Ruckle, L. Patiny, T. Muamba, J. F. Guichou, M. Mutter, R. Wenge, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 7193;
- 66 – T. Goodman, L. Moroder, *Synthesis of Peptides and Peptidomimetics*, **2003**, vol. E 22c, 215-271;
- 67- K. A. Witt, T. J. Gillespie, J. D. Huber, , R. D. EgletonDavis, *T. P. Peptides*, 2001, **22**, 2329-2343;
- 68 – T. Ruckle, B. Dubray, F. Hubler, M.J. Mutter, *Pept. Sci.*, **1999**, 5, 56;
- 69 - D. W. Hansen, D. Pilipauskas, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 945-950;
- 70 - F. M. F Chen, N. L. Benoiton, *J. Chem.*, **1977**, 55, 1433.

- 71 – D. Papaioannou, C. Athanassopoulos, V. Magafa, N. Karamanos, G. Stavropoulos, A. Napoli, G. Sindona, D.W. Aksnes, G.W. Francis, *Acta Chem. Scand.*, **1994**, 48, 324.
- 72 – E.L. Belsito, R. De Marco, M.L. Di Gioia, A. Liguori, F. Perri, M.C. Viscomi, *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 4245-4252;
- 73 – T. Fukuyama, C.K. Jow, M. Cheung, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 6373;
- 74 – M.L. Di Gioia, A. Leggio, A. Le Pera, A. Liguori, A. Napoli, C. Siciliano, G. Sindona, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 7416.
- 75 – M.L. Di Gioia, A. Leggio, A. Liguori, F. Perri, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 3723.
- 76 - M. J. Remko, *Phys. Chem.* **2003**, 107, 720-725;
- 77 - B. W. Clare, A. Scozzafava, C. T. Supuran, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2253-2258;
- 78 - L. Gavernet, J. E. Elvira, G. A. Samaja, V. Pastore, , M. Sella Cravero, A. Enrique, G. Estiu, L. E. Bruno-Blanch, *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 1592-1601;
- 79 - T. H. Maren, C. W. Conroy, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 26233-26239;
- 80 - B. H. Fung, L. H. Kirschenbaum, R. Hameed, *Clin. Ther.* **2000**, 22, 549-572;
- 81 - R. Mohan, M. Banerjee, A. Ray, T. Manna, L. Wilson, T. Owa, B. Bhattacharyya, D. Panda, *Biochemistry*, **2006**, 45, 5440-5449;
- 82 - S. P. Gupta, V. Maheswaran, V. Pande, D. Kumar, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2003**, 18, 7-13;
- 83 - M. L. Di Gioia, A. Leggio, A. Liguori, F. Perri, C. Siciliano, M.C. Viscomi, *Amino Acids*, **2010**, 38, 133-143;
- 84 – L.S. Monteiro, J. Kolomańska, A.C. Suarez, *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 6731-6735;
- 85 - L.S. Monteiro, J. J. Andrade, A. C. Suárez, *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 6764-6772;
- 86 - L.S. Monteiro, A. C. Suárez, *Amino acids*, **2012**, 1643-1652.